

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-
Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-
Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin,
N. Zuntz-Berlin

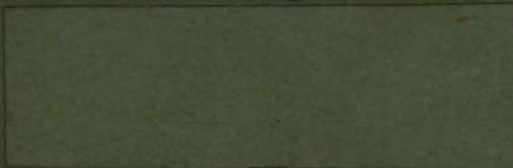
unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Darig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, K. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Ladolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Panli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. F. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rossmann-Breslau, F. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. F. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeler-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechshundsechzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1914.

QP501

.B58

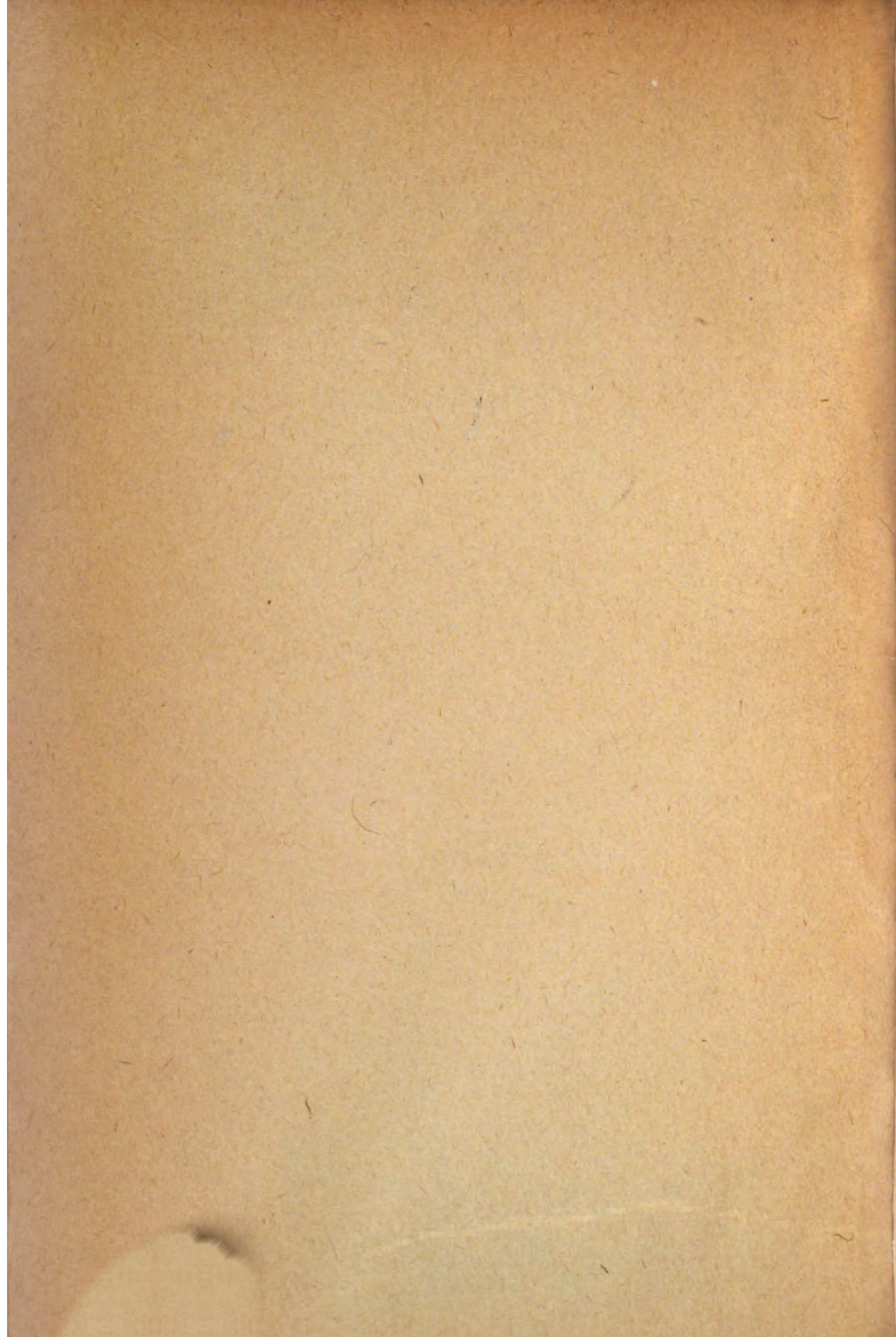
v. 66

CHEMISTRY LIBRARY



JOURNAL
Does Not Circulate

CHEMISTRY LIBRARY



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-
Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-
Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin,
N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Ascher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Stenon-**
thal-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien,
P. Ehrlich-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **J. Forsman**-Lund, **S. Fränkel**-
Wien, **E. Freund**-Wien, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-
Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-
Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Mebert**-Rostock, **M. Kamagawa**-Tokio, **F. Landell**-
Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-
New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York,
L. Marchlewski-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin,
J. Morgenroth-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg,
W. Pauli-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Rech-**
mann-Breslau, **P. Reuss**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siedgfred**-
Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-
Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeler**-München, **H. Thoms**-
Berlin, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **W. Wlechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgenuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechshundsechzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1914.

. 351243

QP501
.B58.
v. 66

VERBODEN AFZAKEN
VERBODEN

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig

SPECIAL LIBRARY FUND

Chem

OCT 31 1940

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Hári, Paul. Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Energieumsatz und Eiweißstoffwechsel beim Hungern	1
Hári, Paul. Energieumsatz bei chronischer Unterernährung	20
Verzár, F. und J. Krauß. Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes. III.	48
Krauß, J. und M. Selner. Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes. IV.	56
S. Csorna und G. Melemen. Beitrag zur Kenntnis der „spezifisch-dynamischen Wirkung“ der Nährstoffe	63
Verzár, F. Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes. V. .	75
Welser, Stephan. Zur Kenntnis des Einflusses kalkarmer Nahrung auf die Zusammensetzung der wachsenden Knochen	95
Farkaš, Milan. Enthält der normale Harn freies Glycerin?	115
Szalágyi, Kornelius und Alexander Kriwuscha. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des Enten- und Hühnerharnes	122
Szalágyi, K. und A. Kriwuscha. Über das Verhalten einiger Aminosäuren im Stoffwechsel der Vögel	139
Szalágyi, K. Refraktions- und Dispersionsbestimmungen an Fetten u. Ölen	149
Gróh, Julius und Gustav Friedl. Beiträge zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften der alkohollöslichen Proteine des Weizens und Roggens	154
Gróh, Julius und Irene D. Götz. Stalagmometrische Bestimmung kleiner Hydroxylionenkonzentrationen	165
Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. V.	173
Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. VI.	191
Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. VII.	202
Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. VIII.	207
Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. IX.	218
Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. X.	225
Rohonyi, H. Ionenpermeabilität und Membranpotential	231
Rohonyi, H. Zur Theorie der bioelektrischen Ströme	248
Földényi, M. Adsorption, Quellung und osmotischer Druck von Kolloiden	258

Parsemow, O. S. Einige experimentelle Untersuchungen über die Frage der Entstehung und Spezifität der Blutfermente bei Anwendung des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens	269
Loeb, Jacques. Der irreziproke Charakter des Antagonismus zwischen Anionen und Kationen	277
Cahn-Bronner, C. B. Über das Verhalten der Eiweißspeicherung in der Leber bei enteraler und parenteraler Zuführung von verschiedenen Eiweißabbauprodukten	289
Fersman, J. und J. Fox. Über antianaphylaktische Erscheinungen bei den homologen und heterologen Antihammelsera von Kaninchen	308
Kobzarenske, S. Untersuchungen über das Erepsin	344
Fujii, Torahiko. Über das Vorkommen von gerinnungshemmenden Substanzen in den weiblichen Geschlechtsorganen und in der Placenta	368
Willberg, M. A. Die natürliche Resistenz einiger Tiere dem Atropin gegenüber	389
Alzona, Federico. Über Verbindungen vom Typus der Chondroitinschwefelsäure	408
Bürgi, E. und C. F. v. Traczewski. Über die Wirkung von Organextrakten auf das Herz. I.	417
Hemmeler, John C. Ergänzung zum Artikel über „Die Biochemie des Vagusproblems“. II.	437
Löff, Sergius. Zur Kenntnis der Hefereduktase	440
Minenkow, A. R. Die alkoholische Gärung höherer Pflanzen . . .	467
Thersch, Margarete. Über die Einwirkung von Alkohol und Osmium auf die bindenden Gruppen der Bakterien	486
Kopaczowski, W. Über die physiologischen Wirkungen des Scillitins und Scillidiuretins	501
Brianmeyer, Emil. Nachträgliche Bemerkung zu meiner Abhandlung: Darstellung von linksdrehendem Benzaldehyd durch asymmetrische Induktion mit Hilfe von Rechtsweinsäure, Überführung desselben in linksdrehendes Mandelsäurenitril und rechtsdrehende Mandelsäure usw.	509
Kregh, August. Berichtigung zu meinem Aufsatz: Ein Mikro-respirationsapparat	512
Autorenverzeichnis.	513

Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Energieumsatz und Eiweißstoffwechsel beim Hungern.

Von
Paul Hári.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: Franz Tangl.]

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Nach dem Oberflächengesetz von Rubner¹⁾ stellt die Wärmeproduktion eines Warmblüters nicht die Funktion seiner Körpermaße, sondern die der Oberflächenentwicklung seines Körpers dar: an 7 von ihm bei 15° C im Hungerzustande untersuchten Hunden im Gewichte von 3,2 bis 31,2 kg beträgt die pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht berechnete Wärmeproduktion 88,1 bis 35,7 kg-Cal.; hingegen auf 1 qm Körperfläche bezogen 1036 bis 1212 kg-Cal. Nachdem bereits Rubner das erwähnte Gesetz dahin ausgedehnt hatte, daß die auf die Einheit der Körperoberfläche bezogene Wärmeproduktion nicht nur eines Tieres, sondern auch verschiedener Warmblüter (Hund, Kaninchen, Huhn) annähernd gleich sei, war es Erwin Voit²⁾, der aus der Berechnung der von früheren Autoren an verschiedenen Warmblütern angestellten Versuchen zum Ergebnisse kam, daß bei der genannten Temperatur das Schwein, der Mensch, der Hund, die Gans und das Huhn ca. 1000 kg-Cal. pro 1 qm ihrer Körperoberfläche produzieren und nur das Kaninchen mit ca. 800 hinter diesen Werten etwas zurückbleibt.

Es ist bekannt, daß mehrere Autoren das Rubnersche

¹⁾ M. Rubner, Über den Einfluß der Körpergröße auf Stoff- und Kraftwechsel. Zeitschr. f. Biol. 19, 549.

²⁾ E. Voit, Über die Größe des Energiebedarfs der Tiere im Hungerzustande. Zeitschr. f. Biol. 41, 120.

Gesetz nicht, wie z. B. Hößlin¹⁾, oder wenigstens nicht in seiner ursprünglichen Fassung, wie E. Voit²⁾, gelten lassen wollen. Nach E. Voit wäre das Gesetz nur gültig, „wenn Körperruhe, mittlere Umgebungstemperatur und relativ gleicher Eiweißbestand gegeben ist“; im übrigen werde „die Zersetzungsgröße eines Tieres . . . bestimmt 1. durch dessen Zellmasse, 2. durch die Reizbarkeit der Substanz, 3. durch die Zahl der Erregungsmomente, die der Zellmasse zugeleitet werden und dadurch die Tätigkeit derselben anregen“. Solche Erregungsmomente würden allerdings durch die Oberfläche in bedeutender Anzahl geliefert.

Daß die Frage einer weiteren Klärung bedarf, ist wohl nicht zweifelhaft, besonders wenn die Bedingungen der betreffenden Versuche einer näheren Betrachtung unterzogen werden. Sie wurden nämlich bei ziemlich verschiedenen Umgebungstemperaturen angestellt. Allerdings hatte Rubner seine Versuche auf eine bestimmte mittlere Temperatur (15°) umgerechnet, und zwar auf der Basis, daß dem Temperaturunterschied von 1° eine Änderung von 1,1% in der Wärmeproduktion entspricht, wie Herzog Karl Theodor³⁾ an einer gefütterten Katze gefunden hatte. Nun ist es aber teilweise aus Rubners anderen Versuchen bekannt, daß dieser Befund durchaus nicht verallgemeinert werden kann. Die Änderung beträgt in manchen von Rubner⁴⁾ an Hunden ausgeführten Versuchen 3, in anderen sogar 5% pro 1°. Andererseits ist es bekannt, daß diese Änderung sogar bei ein und demselben Tiere um ein Mehrfaches verschieden sein kann, je nachdem es sich um verschiedene Temperaturintervalle handelt.

Man kann sogar Versuche, die alle bei derselben, jedoch relativ niedrigen Temperatur angestellt waren, nicht gut vergleichen; je nach der Verschiedenheit in der Haarbildung, dem

¹⁾ H. v. Hößlin, Über die Ursache der scheinbaren Abhängigkeit des Umsatzes von der Größe der Körperoberfläche. Du Bois-Reymonds Arch. f. Physiol. 1888, 323.

²⁾ l. c. S. 149 und 153.

³⁾ Herzog Karl Theodor, Über den Einfluß der Temperatur der umgebenden Luft auf die Kohlensäureausscheidung und die Sauerstoffaufnahme bei einer Katze. Zeitschr. f. Biol. 14, 51.

⁴⁾ M. Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauches bei der Ernährung. An verschiedenen Stellen.

Fettpolster usw. der Tiere kann das Plus an Wärme, das bei 15° behufs chemischer Regulation seiner Körpertemperatur von einem Tiere produziert wird, weit mehr betragen als bei einem anderen Tier bei derselben Temperatur; da spielen individuelle Eigenschaften sicherlich eine große Rolle.

Es ist also eine weitere Klärung der ganzen aufgeworfenen Frage nur von Versuchen zu erwarten, in denen die Tiere, nachdem sie vorher längere Zeit gleichmäßig gefüttert waren, in annähernd derselben Periode des Hungerns sich befinden, und in der Nähe der kritischen Umgebungstemperatur untersucht werden, wo wir also in der Lage sind, tatsächlich ihren minimalen Erhaltungsumsatz zu vergleichen.

Als solche scheinen mir 17 Respirationsversuchsreihen geeignet zu sein, die ich in den Jahren 1909 bis 1913 an hungernen Hunden angestellt habe. An den Tieren wurden nach den ersten Hungertagen verschiedene Eingriffe vorgenommen und die Respirationsversuche fortgesetzt; die Ergebnisse der letzteren sind teils bereits publiziert, teils harren sie noch der Veröffentlichung; hier sind sie natürlich nicht berücksichtigt.

Die große Mehrzahl dieser Versuche war in der Nähe der kritischen Umgebungstemperatur, etwa um 28° herum, angestellt worden; drei Versuchsreihen, in denen diese Temperatur gegen 24° betrug, konnten aus folgenden Gründen ohne Bedenken den übrigen angereiht werden.

Es wurden zwei Versuchsreihen am selben langhaarigen Hunde ausgeführt, einmal bei 28,5° und einmal bei ca. 24°; der Energieumsatz war in beiden Fällen ein annähernd gleicher, was ja eigentlich auch zu erwarten war, da sich der Hund bei 24° bereits in der Nähe der für das langhaarige Tier kritischen Umgebungstemperatur befunden hatte, also bereits bei seinem minimalen Erhaltungsumsatz angelangt war. Dasselbe gilt für ein zweites langhaariges Tier, an dem gleichfalls zwei Versuchsreihen angestellt wurden¹⁾.

¹⁾ Kines der langhaarigen Tiere, das, wie wir später sehen werden, den geringsten Energieumsatz (auf die Körpergewichts- und Körperoberflächeneinheit reduziert) aufwies, habe ich nach Abschluß der Versuche sorgfältig geschoren und das Gewicht der Haare bestimmt, es betrug 201 g. Dieses Plus am Körpergewicht konnte daher bei der Reduktion der Ausscheidungen, der Wärmeproduktion usw. auf die Einheit des Körpergewichtes oder der Körperoberfläche keinen nennenswerten Ausschlag geben.

Tabelle I.

Versuchsreihe	Datum des Versuchs	Wievielter Hungertag?	Mittlere Tem- peratur des Tierraumes °C	Mittleres Körpergewicht g	Mittlere Körper- oberfläche qcm	Gesamte N-Ausgabe pro 24 Std. g	Gesamte C-Ausgabe pro 24 Std. g	a Zersetztes Eiweiß pro 24 Std. g	b Zersetztes Fett pro 24 Std. g	c Energiegehalt des Harns (und Kotes) kg-Cal	Energieumsatz pro 24 Std.		Anmerkungen
											aus den Zer- setzungen berechnet (a + b - c)	direkt bestimmt	
I	Januar 1909	6. 8.	27,5 27,5	3457 3306	2561 2486	1,27 1,34	16,8 16,0	8,0 8,4	16,5 15,0	14,6 13,6	185,4 174,7	181,3 186,0	Diese Zeitschr. 34, 110 (als Versuchsreihe I)
II	März 1909	3. 4.	27,5 27,5	5357 5328	3429 3416	2,66 2,94	29,9 29,4	16,6 18,4	27,6 25,8	20,4 21,4	333,3 325,4	348,1 341,4	Diese Zeitschr. 34, 110 (als Versuchsreihe II)
III	März 1909	3. 4.	27,5 27,5	6274 6016	3810 3705	2,67 2,67	37,7 37,4	16,7 16,7	37,7 37,4	22,5 22,5	426,9 428,2	432,6 434,1	Diese Zeitschr. 34, 110 (als Versuchsreihe III)
IV	April 1909	2. 4.	27,5 27,5	9157 8585	4902 4696	1,93 2,03	45,5 41,5	12,1 12,7	50,9 45,3	25,0 23,7	521,3 473,7	524,5 475,6	Diese Zeitschr. 34, 110 (als Versuchsreihe IV)
V	Februar 1910	3. 5.	27,5 27,5	3271 3044	2468 2352	1,32 2,11	24,5 22,3	8,2 13,2	26,3 20,0	17,6 17,6	276,1 244,6	265,9 237,1	Diese Zeitschr., dieser Bd., S. 20 (als Versuchsreihe III)
VI	März 1910	3. 5.	28,0 28,0	3445 3247	2555 2456	2,06 1,96	24,7 22,5	12,9 12,2	23,4 20,8	22,6 22,6	269,8 242,5	294,0 251,6	Diese Zeitschr., dieser Bd., S. 20 (als Versuchsreihe IV)
VII	Juni 1910	3. 5.	27,5 27,5	8717 8416	4744 4634	2,54 2,68	34,9 31,7	15,9 16,7	34,5 29,8	21,1 21,3	398,4 353,0	415,4 351,2	Diese Zeitschr. 44, 66 (als Versuchsreihe III)
VIII	Dezember 1910	3. 5.	28,5 28,5	8127 8000	4527 4480	2,66 3,01	34,9 34,8	16,6 18,8	34,1 32,4	23,0 23,0	381,4 378,3	379,4 386,2	Diese Zeitschr. 44, 84 (als Versuchsreihe III)

IX	Januar 1911	4. 28,5 28,5	6274 5956	3810 3680	1,76 2,57	29,4 29,4	11,2 16,1	30,6 27,2	23,9 23,9	326,6 322,7	333,2 326,5	Diese Zeitschr. 44, 84 (als Versuchsreihe V)
X ¹⁾	September 1911	3. 29,0 29,0	7589 7250	4325 4195	1,23 1,79	27,5 25,8	7,8 11,2	30,5 25,9	15,8 15,8	315,1 291,2	304,2 282,0	
XI ¹⁾	November 1911	3. 29,0 29,0	5960 5812	3682 3620	1,04 1,29	21,7 20,7	6,5 8,0	23,8 21,5	13,4 13,4	247,1 234,0	267,2 228,2	Diese Zeitschr., dieser Bd., S. 20 (als Versuchsreihe V)
XII	Dezember 1911	3. 29,0 29,0	6846 6210	3823 3784	2,20 1,96	35,0 33,9	13,7 12,4	36,1 35,7	20,4 20,4	396,6 386,7	396,2 363,4	Diese Zeitschr., dieser Bd., S. 20 (als Versuchsreihe VI)
XIII ²⁾	März 1912	2. 29,0 29,0 29,0 29,0 29,0	8807 8759 8650 8467 8167	4776 4759 4719 4653 4542	1,35 1,16 1,82 1,37 1,12	28,7 28,9 29,0 28,2 25,1	8,4 7,2 11,4 8,6 7,0	31,5 32,6 30,0 30,8 27,8	13,4 13,4 15,4 15,4 11,9	330,3 333,9 330,9 322,9 289,3	364,7 340,9 361,5 329,5 301,7	
XIV ²⁾	Januar 1913	3. 24,0 24,0	6767 6647	4007 3959	1,60 1,60	26,7 28,1	10,0 10,0	28,1 29,9	16,0 16,0	307,4 322,0	279,6 306,6	
XV ²⁾	Februar 1913	1. 28,5 28,5	6633 6445	3954 3879	2,03 2,09	28,9 27,0	12,7 13,0	29,0 26,2	20,0 20,0	323,7 299,8	333,5 318,5	
XVI ²⁾	März 1913	5. 24,0 24,0	6632 6424	3953 3870	0,82 1,24	23,9 24,6	5,6 7,7	27,5 26,7	9,0 9,0	281,0 285,5	280,8 281,9	
XVII ²⁾	Mai 1913	3. 24,0 24,0	7434 7325	4266 4224	1,11 1,67	24,9 24,4	7,0 10,4	27,6 24,7	8,3 12,4	287,7 278,6	267,0 252,6	

¹⁾ Versuche X, XI und XIII wurden am selben langhaarigen Hund angestellt.

²⁾ Versuche XIV und XVI wurden am selben langhaarigen Hund angestellt.

³⁾ Versuche XV und XVII wurden am selben langhaarigen Hund angestellt.

Immer wurden zu den Versuchen ausgewachsene weibliche, von den erwähnten 3 Fällen abgesehen, kurzhaarige Tiere verwendet. Sie erhielten Wochen vorher ein aus Speiserückständen und Küchenabfällen eines Krankenhauses bestehendes, ziemlich gleichmäßiges gemischtes Futter. Dann wurde den Tieren die Nahrung entzogen und an ihnen am 2. oder 3., in einem Falle auch bereits am 1. Hungertage die Versuche begonnen.

In allen Versuchsreihen wurde der Energieumsatz einerseits direkt bestimmt, und zwar in allen älteren Versuchsreihen im Rubnerschen, in einigen neueren Versuchsreihen im Tanglschen Respirationscalorimeter, das auf demselben Prinzip, wie das von Professor Tangl¹⁾ jüngst beschriebene Calorimeter für kleine Tiere beruht, und demnächst zur Veröffentlichung kommen soll.

Andererseits wurde in allen Versuchsreihen der gesamte N- und C-Verkehr bestimmt, und hieraus — unter Vernachlässigung des Glykogens, was ja am Hungertier durchaus gestattet ist — der Eiweiß- und Fettumsatz sowie auch die Wärmeproduktion berechnet (indirekte Calorimetrie). Die Kohlen säureproduktion wurde nach dem Pettenkofer-Voitsche Prinzip, der Kohlenstoff in Harn und Kot auf nassem Wege nach dem Verfahren von Messinger-Brunner-Scholz in der Modifikation von Tangl und Kereszty²⁾, der Stickstoff im Harn und Kot nach Kjeldahl unter Verwendung von metallischem Quecksilber als Katalysator bestimmt. Der Energiegehalt in Harn und Kot wurde in einer modifizierten Berthelot-Mahlerschen Bombe bestimmt, und für je 1 g bei der Eintrocknung entwichenen Stickstoffs 5,4 Cal (nach Rubner) in Abzug gebracht. Der Harn wurde durch Katheterisieren und Blasen spülung 24stündlich, der Kot mittels Kieselsäure am Anfang und am Ende der Versuchsreihe abgegrenzt.

Zu den Versuchen hatten insgesamt 13 Hunde gedient, wovon einer in 3 Versuchsreihen (X, XI, XIII), ein zweiter und dritter in je 2 Versuchsreihen (XIV, XVI resp. XV, XVII) verwendet wurden. An allen übrigen Tieren wurde bloß je eine Versuchsreihe vorgenommen.

¹⁾ Franz Tangl, Ein Calorimeter für kleine Tiere. Diese Zeitschr. 53, 21.

²⁾ F. Tangl und G. v. Kereszty, Zur Methodik der Bestimmung des Kohlenstoffes auf nassem Wege. Diese Zeitschr. 82, 266.

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuchsreihe	Wievielter Hungertag?	Pro 24 Std. und 1 kg Körpergewicht		Pro 24 Std. und 1 qm Körperoberfläche		Energieumsatz in 24 Std. direkt bestimmt	
		zer-setztes Eiweiß g	zer-setztes Fett g	zer-setztes Eiweiß g	zer-setztes Fett g	pro 1 kg Körpergewicht kg-Cal.	pro 1 qm Körperoberfläche kg-Cal.
XIV	3.	1,48	4,15	25,0	70,1	41,3	698
	4.	1,50	4,50	25,3	75,5	46,1	774
XV	1.	1,91	4,37	32,1	73,2	50,3	843
	2.	2,02	4,06	33,4	67,6	49,4	821
XVI	5.	0,84	4,15	14,2	69,5	42,3	710
	6.	1,20	4,16	20,0	69,0	43,9	728
XVII	3.	0,94	3,71	16,3	64,7	35,9	626
	4.	1,42	3,37	24,6	58,5	34,5	598

Die im letzten Stab der Tabelle II für jede einzelne Versuchsreihe berechneten Mittelwerte schwanken zwischen 612 und 1153 kg-Cal. Demnach ist der minimale Erhaltungsumsatz hungernder, bei der kritischen Temperatur untersuchter Hunde, die vorher annähernd gleichmäßig gefüttert wurden und annähernd in derselben Periode des Hungerns sich befinden, ein durchaus ungleichmäßiger; und zwar nicht nur, wenn der Umsatz auf die Einheit des Körpergewichtes, sondern auch, wenn er auf die Einheit der Körperoberfläche bezogen wird. Im letzteren Falle betragen die maximalen Unterschiede auf den größeren Wert bezogen 47⁰/₀, auf den kleineren Wert bezogen gar 88⁰/₀.

Ähnliche Befunde wurden auch von früheren Autoren erhoben. So hat Nebelthau¹⁾ direkte calorimetrische Bestimmungen an 7 hungernden Kaninchen bei 17,1 bis 20,4⁰ am 2. Hungertage angestellt und gefunden, daß die pro 1 qm Körperoberfläche berechnete Wärmeproduktion der verschiedenen Tiere zwischen 549 und 842 kg-Cal. schwankt. Desgleichen hatten Lehmann und Voit²⁾ 5 Gänse am 2. bis 6. Hungertage bei 13,3 bis 16,4⁰ untersucht und pro 1 qm ihrer Körperoberfläche 768 bis 1104 kg-Cal. gefunden.

¹⁾ E. Nebelthau, Calorimetrische Untersuchungen am hungernden Kaninchen im fieberfreien und fieberhaften Zustande. Zeitschr. f. Biol. 81, 293.

²⁾ E. Voit, wie unter ¹⁾ S. 119.

Im folgenden soll eine Erklärung dafür gesucht werden, wie diese sehr bedeutenden Unterschiede in der Wärmeproduktion verschiedener Tiere einer Tierspezies zustande kommen.

In nachfolgender Tabelle III habe ich in jeder meiner Versuchsreihen die Mittelwerte für den 24stündigen Eiweiß- und Fettverbrauch und Energieumsatz berechnet und die Versuchsreihen nach aufsteigendem Eiweißverbrauch geordnet.

Tabelle III.

Versuchsreihe	Mittleres Körpergewicht g	Pro 24 Stunden		
		zersetztes Eiweiß g	zersetztes Fett g	Energieumsatz direkt bestimmt kg-Cal.
XVI	6528	6,6	27,1	281,4
XI	5886	7,2	22,6	247,7
I	3381	8,2	15,7	183,6
XVII	7379	8,7	26,1	260,2
XIII	8671	8,9	31,2	349,1
X	7420	9,5	28,2	293,1
XIV	6539	10,0	29,0	293,1
V	3157	10,7	23,1	251,5
IV	8871	12,4	48,1	500,0
VI	3346	12,5	22,2	272,8
XV	6707	12,9	27,6	326,0
XII	6278	13,0	35,9	379,8
IX	6115	13,6	28,9	329,8
VII	8566	16,3	32,2	383,3
III	6145	16,7	37,5	433,3
II	5342	17,5	26,7	344,7
VIII	8063	17,7	28,2	382,8

Aus Tabelle III ergibt sich zunächst, daß der Energieverbrauch vom Eiweißverbrauch unabhängig ist; es entspricht dies der bekannten Tatsache, daß die Beteiligung des Eiweißes am Energieumsatz auch an Hungertieren gewissen Schwankungen unterliegt; so z. B. beträgt sie:

in Versuchsreihe XIII	9,6 ⁰ / ₀ ,
" " VI	16,5 ⁰ / ₀ ,
" " XV	18,7 ⁰ / ₀ ,
" " II	20,9 ⁰ / ₀ .

Diese als Beispiel gewählten Versuchsreihen zeigen weiterhin:

a) daß der Energieumsatz bei gleichem Eiweißverbrauch ein verschiedener sein kann; so beträgt

		der 24stündige	
		Eiweißverbrauch	Energieumsatz
in Versuchsreihe VI . .	12,5 g		272,8 kg-Cal.,
" " XV . .	12,9 g		321,0 "

b) daß bei gleichem Energieumsatz der Eiweißverbrauch ein ganz verschiedener sein kann; es beträgt

		der 24stündige	
		Eiweißverbrauch	Energieumsatz
in Versuchsreihe XIII . .	8,2 g		349,1 kg-Cal.,
" " II . .	17,5 g		344,7 "

Die angeführten Daten sagen aber nichts darüber aus, wie der weiter oben erwähnte Unterschied in der auf die Oberflächeneinheit reduzierten Wärmeproduktion zustande kommt.

Wenn wir die Werte für die Eiweiß- und Fettzersetzung sowie für den Energieumsatz auf die Einheit des Körpergewichtes oder der Körperoberfläche reduzieren und die Versuchsreihen wieder nach dem aufsteigenden Eiweißverbrauch ordnen, wie dies in nachfolgender Tabelle IV geschehen ist, ergibt sich folgendes:

Tabelle IV.

Versuchsreihe	Mittleres Körpergewicht g	Pro 24 Std. und 1 kg Körpergewicht			Versuchsreihe	Mittlere Körperoberfläche qcm	Pro 24 Std. u. 1 qm Körperoberfläche		
		zersetztes		Energieumsatz direkt bestimmt kg-Cal.			zersetztes		Energieumsatz direkt bestimmt kg-Cal.
		Eiweiß g	Fett g				Eiweiß g	Fett g	
XVI	6528	1,02	4,13	43,1	XVI	3912	17,1	69,3	719
XIII	8671	1,03	3,80	40,1	XIII	4727	18,9	66,7	739
XVII	7379	1,18	3,54	35,2	XI	3651	19,9	62,0	678
XI	5886	1,22	3,84	42,0	XVII	4245	20,5	61,6	612
X	7420	1,28	3,79	39,5	X	4260	22,2	65,8	688
IV	8871	1,40	5,42	56,3	XIV	3916	25,1	72,8	736
XIV	6539	1,49	4,32	43,7	IV	4799	25,3	102,5	1041
VII	8566	1,90	3,75	44,6	I	2523	32,3	62,4	728
XV	6707	1,96	4,21	50,0	XV	3983	32,8	70,4	832
XII	6276	2,08	5,72	60,5	XII	3803	34,3	94,2	999
VIII	8063	2,19	4,12	47,5	VII	4689	34,8	68,6	817
IX	6115	2,24	4,72	53,9	IX	3745	36,5	77,1	880
I	3381	2,43	4,65	54,3	VIII	4503	39,3	73,8	851
III	6145	2,72	6,11	70,5	III	3757	44,5	100,0	1153
II	5342	3,27	5,00	64,5	V	2420	44,8	95,6	1043
V	3157	3,52	7,30	79,6	VI	2505	50,2	88,2	1080
VI	3346	3,75	6,60	81,4	II	3422	51,2	78,2	1007

Es ist aus Tabelle IV sofort zu ersehen, daß der auf 1 kg oder 1 qm der Körperoberfläche bezogene minimale Erhaltungsumsatz bei denjenigen Tieren am größten ist, die den relativ größten Eiweißverbrauch aufweisen.

Allerdings sind gewisse Schwankungen in den betreffenden Werten nicht zu verkennen, doch springt bloß Versuchsreihe IV aus der Reihe. Auch findet eine gewisse Verschiebung der Werte und daher auch der nach dem Eiweißverbrauch geordneten Reihenfolge der Versuchsreihen statt, je nachdem die Reduktion der Werte einmal von dem Körpergewicht aus erfolgt, ein zweites Mal aber von der $\frac{2}{3}$ ten Potenz desselben Körpergewichtes.

Die fünf ersten Versuchsreihen, in denen die Eiweißzersetzung und — von drei anderen Versuchsreihen abgesehen — auch der Energieumsatz am geringsten war, verhalten sich voneinander nur wenig verschieden.

Die auf 1 kg resp. 1 qm reduzierte Eiweißzersetzung betrug im Mittel dieser fünf Versuchsreihen 1,15 resp. 19,7 g, die Fettverbrennung 3,82 resp. 65,1 g, und der Energieumsatz 40,0 resp. 687 kg-Cal.; demnach ist die Relation Eiweiß:Fett:Energieumsatz gleich 1:3,3:34,8.

Vergleichen wir nun weiterhin die für Eiweiß- und Fettverbrauch und Energieumsatz in allen übrigen Versuchsreihen erhaltenen Werte mit den entsprechenden Mittelwerten aus den oben genannten ersten fünf Versuchsreihen und berechnen den Zuwachs für jede jener Versuchsreihen, so ergeben sich die in Tabelle V angeführten Resultate.

Was den Energieumsatz anbelangt, ist, von einigen Versuchsreihen (IV und XII) abgesehen, die mehr oder minder stark aus der Reihe fallen, in allen übrigen Versuchsreihen der Zuwachs im Energieumsatz um so größer, je größer die Eiweißverbrennung ist. Dasselbe kommt im Zuwachs der Fettverbrennung weniger gut zum Ausdruck, wiewohl auch hier, von Versuchsreihe IV abgesehen, die kleineren resp. größeren Werte mit der geringeren resp. bedeutenderen Zunahme der Eiweißverbrennung zusammenfallen.

Ziehen wir aus diesen 12 Versuchen den Mittelwert, was bei der relativ großen Anzahl von Versuchen wohl gestattet ist, so erhalten wir als Endergebnis, daß durch eine Mehrver-

Tabelle V.

Versuchsreihe	Pro 24 Std. und 1 kg Körpergewicht wird			Versuchsreihe	Pro 24 Std. und 1 qm Körperoberfläche wird		
	mehr Eiweiß zersetzt	mehr Fett zersetzt	mehr chemische Energie umgesetzt		mehr Eiweiß zersetzt	mehr Fett zersetzt	mehr chemische Energie umgesetzt
	g	g	kg-Cal.		g	g	kg-Cal.
	als im Mittel d. Versuchsreihen XVI, XIII, XVII, XI u. X ¹⁾				als im Mittel d. Versuchsreihen XVI, XIII, XI, XVII u. X ²⁾		
IV	0,25	1,60	16,3	XIV	5,4	7,7	49
XIV	0,34	0,50	3,7	IV	5,6	37,4	354
VII	0,75	— 0,07(?)	4,06	I	12,6	— 2,7 (!)	41
XV	0,81	0,39	10,0	XV	13,1	5,3	145
XII	0,93	1,90	20,5	XII	14,6	29,1	309
VIII	1,04	0,30	7,5	VII	15,1	3,6	130
IX	1,09	0,90	13,9	IX	16,8	12,1	193
I	1,28	0,83	14,3	VIII	19,6	8,8	164
III	1,57	2,29	30,5	III	24,8	35,0	466
II	2,12	1,18	24,5	V	25,1	30,8	356
V	2,27	3,48	39,6	VI	30,5	23,2	399
VI	2,60	2,78	41,4	II	31,5	13,2	320
Mittel- wert }	1,25	1,34	18,9	Mittel- wert }	17,9	17,0	244
	Relation Eiweiß : Fett : Energie = 1:1,07:15,1.				Relation Eiweiß : Fett : Energie = 1:0,95:13,6.		

brennung von Eiweiß eine proportionale Steigerung des Fettverbrauches und des Energieumsatzes bewirkt wird, und zwar ist für den Zuwachs die Relation Eiweiß : Fett : Eiweißumsatz = 1:ca. 1:13,6 bis 15,1 demnach gänzlich verschieden von der Relation, die wir oben für den Fall der minimalen Eiweißverbrennung gefunden haben.

Es ist nicht zu verkennen, daß es in der Tabelle eine ganze Reihe von Werten gibt, die aus der Reihe fallen. Daß

¹⁾ In den Versuchsreihen XVI, XIII, XVII, XI und X beträgt im Mittel pro 1 kg Körpergewicht:

das zersetzte Eiweiß 1,15 g,
 " " Fett 3,81 g,
 die umgesetzte chemische Energie . . 40,0 kg-Cal.,
 Relation Eiweiß : Fett : Energie . . . 1:3,3:34,8.

²⁾ In den Versuchsreihen XVI, XIII, XI, XVII und X beträgt im Mittel pro 1 qm Körperoberfläche:

das zersetzte Eiweiß 19,7 g,
 " " Fett 65,1 g,
 die umgesetzte chemische Energie . . 687 kg-Cal.,
 Relation Eiweiß : Fett : Energie . . . 1:3,3:34,9.

aber das aus allen Ziffern — das Resultat von insgesamt 38 Respirationsversuchen — berechnete Endergebnis doch der Wahrheit sehr nahe kommt, erhellt daraus, daß sieben von zwölf Versuchsreihen¹⁾ Verhältniszahlen aufweisen, die dem berechneten Mittelwert sich genügend nähern. So entspricht ein Mehrverbrauch von 1 g Eiweiß ein Plus an Wärmeproduktion pro 1 qm in

Versuchsreihe	XV	11,7 kg-Cal.
"	VII	8,6 "
"	IX	11,5 "
"	VIII	8,4 "
"	V	14,2 "
"	VI	13,1 "
"	II	10,2 "

Desgleichen bei der Reduktion auf 1 kg Körpergewicht in

Versuchsreihe	I	11,2 kg-Cal.
"	II	11,5 "
"	V	17,4 "
"	VI	15,9 "
"	IX	12,8 "
"	XIV	10,9 "
"	XV	12,4 "

Von den 6 Versuchsreihen, deren Werte aus der Reihe fallen, gibt es wieder einige, bei denen eine solche Übereinstimmung von vornherein nicht zu erwarten war. Denn die nicht zu umgehenden Versuchsfehler bei der direkten Calorimetrie, ferner beim Sammeln von Harn und Kot, bei der N-Bestimmung, haben zur unmittelbaren Folge, daß obige Rechnung um so unsicherer wird, je geringer die Mehrzersetzung an Eiweiß ist; in der Tat sind es gerade die erwähnten Versuchsreihen mit dem geringsten Plus an verbranntem Eiweiß, deren Endergebnis von dem berechneten Mittelwert am meisten sich entfernen.

Ich habe versucht, diesen meinen Versuchsreihen diejenigen anderer Autoren gegenüberzustellen, die unter ähnlichen Versuchsbedingungen, namentlich ebenfalls in der Nähe der kritischen Temperatur angestellt wurden. In nachstehender Tabelle VI sind acht solche Versuchsreihen zusammengestellt.

¹⁾ In der Tabelle V sind die betreffenden Werte fett gedruckt.

Tabelle VI.

Temperatur ° C	Wievielter Hungertag	Mittlere Kör- pergewicht g	Mittlere Kör- peroberfläche qcm	Pro 1 qm Körperober- fläche		Art der Calorimetrie	Autor
				Zer- setztes Eiweiß g	Energie- Umsatz kg-Cal.		
33	1—4	5237	3378	31,3	826	indirekt	Rubner ¹⁾
26—27	1	9000	4846	34,8	791	direkt und indirekt	Graham Lusk ²⁾
31	2 u. 2	5410	3438	36,2	1033	indirekt	Rubner ³⁾
30	4	3900	2775	36,4	791	"	Rubner ⁴⁾
30	5	3860	2756	36,8	728	"	Rubner ⁵⁾
27,4	2	24000	9319	36,9	794	"	Rubner ⁶⁾
26—27	1	14200	6569	44,2	875	direkt und indirekt	H. B. Williams usw. ⁷⁾
32,8	2—4	5220	3370	45,4	831	indirekt	Rubner ⁸⁾

Es ist nicht zu verwundern, daß hier die in meinen Versuchsreihen klar zutage tretende Gesetzmäßigkeit nicht aufzufinden ist. Denn einerseits ist die Zahl der Versuche, namentlich derjenigen, deren Ergebnisse durch direkte Calorimetrie sichergestellt sind, eine recht geringe. Außerdem wollte es der Zufall, daß in fünf von den acht Versuchsreihen die Eiweißzersetzung nahezu dieselbe Größe hat. Und schließlich wurden diese Versuche vielfach unter einigermaßen verschiedenen Be-

¹⁾ M. Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung, S. 323. Mittelwert aus den Versuchen 20—23.

²⁾ Graham Lusk, Animal Calorimetry III. Journ. of Biol. Chem. 13, 43. Mittelwert aus vier je 3stündigen Versuchen, die eigentlich keine Hunger-, sondern Nüchternversuche waren.

³⁾ M. Rubner, Die Gesetze usw. S. 118.

⁴⁾ M. Rubner, Die Gesetze usw. S. 105. Langhaariger Hund. (Geschoren oder ungeschoren?)

⁵⁾ M. Rubner, Einfluß der Haarbedeckung auf Stoffverbrauch und Wärmebildung. Arch. f. Hygiene 20, 365. Ein langhaariger Hund in geschorenem Zustande.

⁶⁾ M. Rubner, Die Gesetze usw. S. 155.

⁷⁾ H. B. Williams, J. A. Riche und Graham Lusk, Animal Calorimetry. Journ. of Biol. Chem. 12, Tafel 1. Mittelwert aus vier je 1stündigen, eigentlich nicht Hunger-, sondern Nüchternversuchen.

⁸⁾ M. Rubner, Die Gesetze usw. S. 290, 318 und 323. Mittelwert aus Versuch 9, 10 und 11. Die Werte für die N-Ausscheidung sind an den drei genannten Stellen um ca. 10% verschieden angegeben; ich habe bei der Berechnung die auf S. 323 angegebenen Werte verwendet.

dingungen angestellt (Unterschiede in der Außentemperatur, in der vorangehenden Fütterung usw.).

Noch weit weniger ist die erwähnte Gesetzmäßigkeit von Versuchen zu erwarten, die unterhalb der kritischen Temperatur angestellt wurden, so z. B. von den Versuchen von Rubner, bei etwa 20°, die ich in nachstehender Tabelle VII berechnet und zusammengestellt habe. (Die Wärmeproduktion ist bloß in einer dieser Versuchsreihen auch direkt bestimmt.)

Tabelle VII.

Temperatur ° C	Wieviel Hungertag	Mittleres Kör- pergewicht g	Mittlere Kör- peroberfläche qcm	Pro 1 qm Körperober- fläche		Art der Calorimetrie	
				Zer- setztes Eiweiß g	Energie- umsatz kg-Cal.		
19,2	2 u. 3	10000	5198	18,3	1152	indirekt	1)
20,2	2—4	4480	3044	20,8	844	direkt und indirekt	2)
17,1	5	19010	7977	21,9	1087	indirekt	3)
22,1	2 u. 5	6250	3800	28,9	998	"	4)
18,5	4 u. 2	25000	9576	38,9	919	"	5)
18,1	1 u. 2	6760	4004	39,4	1249	"	6)
17,5	4	25600	9729	39,9	937	"	7)
20,3	1—4	8770	4763	45,3	1135	"	8)
17,7	2 u. 4	6110	3743	46,2	1116	"	9)
18,8	1 u. 2	6010	3739	53,4	882	"	10)

Denn es ist klar, daß sich die Tiere bei 20° im Gebiete der chemischen Regulation ihrer Körpertemperatur befinden, und wenn sie auch im Falle einer reichlicheren Eiweißverbren-

1) Über den Einfluß der Körpergröße auf Stoff- und Kraftwechsel. Zeitschr. f. Biol. 19, 541. Tier Nr. V.

2) Die Quellen der tierischen Wärme. Zeitschr. f. Biol. 20, 119. — Thermische Wirkung der Luftfeuchtigkeit. Arch. f. Hygiene 11, 255.

3) Die Vertretungswerte der hauptsächlichsten organischen Nahrungsstoffe im Tierkörper. Zeitschr. f. Biol. 19, 341.

4) Über den Einfluß der Körpergröße auf Stoff- und Kraftwechsel. Zeitschr. f. Biol. 19, 541, Tier Nr. VI.

5) Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung S. 155.

6) Wie unter 4, Tier Nr. VI.

7) Wie unter 5, S. 155.

8) Wie unter 5, S. 302.

9) Wie unter 5, S. 154.

10) Über die Fettbildung aus Kohlenhydraten im Körper des Fleischfressers. Zeitschr. f. Biol. 22, 273.

nung mehr Fett als andere Tiere zersetzten, würde auf Grund des Kompensationsgesetzes nun genau um so weniger Fett zum Zwecke der chemischen Regulation verbrennen, als dem Energiegehalt das Plus an verbranntem Eiweiß entspricht.

Außerdem können in Versuchen, die unterhalb der kritischen Temperatur angestellt wurden, bedeutende Unterschiede auch in der auf die Einheit der Körperoberfläche reduzierten Wärmeproduktion auch dann vorhanden sein, wenn die Versuche bei genau derselben, jedoch niederen Temperatur angestellt werden. Können doch die Verbrennungsvorgänge, die behufs chemischer Regulation der Körpertemperatur vor sich gehen, von Tier zu Tier sehr verschieden sein.

Dasselbe gilt von den Versuchen von May¹⁾, die an drei hungernden Kaninchen am 3. resp. am 3. und 4. Hungertag bei Temperaturen von 18,3 bis 21,5° angestellt wurden, und deren Ergebnisse hier zusammengestellt sind:

	Eiweißzersetzung pro 1 qm g	Wärmeproduktion pro 1 qm kg-Cal.
Kaninchen I . . .	47,3	651
" II . . .	{ 45,1 50,0	592 587
" III . . .	{ 31,2 30,1	749 737

Es ergibt sich nun die Frage: Welcher ursächliche Zusammenhang besteht zwischen dem wachsenden Eiweißverbrauch und dem proportionellen Anstieg des Fettverbrauchs und des Energieumsatzes?

C. Voit²⁾ stellte die Regel auf, daß die Eiweißverbrennung im Verhältnis zur Fettverbrennung relativ um so größer ist, je kleiner das Tier, und umgekehrt. Rubner³⁾ stellt dies in Abrede und gibt nur zu, daß der Eiweißverbrauch im kleineren Tiere zwar relativ größer sei, aber im selben Verhältnis sei auch der Fettverbrauch größer.

Schließlich hat E. Voit⁴⁾ in mehreren Publikationen auf den Zusammenhang zwischen Eiweißbestand, Fettbestand und

¹⁾ Richard May, Der Stoffwechsel im Fieber. Zeitschr. f. Biol. 30, 1.

²⁾ C. Voit, in Herrmanns Handb. 6, 86, 1881.

³⁾ M. Rubner, l. c. S. 502.

⁴⁾ E. Voit, Zeitschr. f. Biol. 41.

Energieverbrauch hingewiesen; seine Betrachtungen beziehen sich aber eher auf Erscheinungen im protrahierten Hunger als auf die individuellen Schwankungen verschiedener Tiere derselben Hungerperiode, von denen eben hier die Rede ist.

Bezüglich der C. Voitschen Regel will ich hier bloß anführen, daß sie in Rubners von mir (S. 15 Tabelle VII) angeführten sowie in meinem eigenen Versuch kaum eine Bestätigung findet.

Was die Lehre von E. Voit anbelangt, kann auf dieselbe hier um so weniger eingegangen werden, als ich die hierfür etwa in Betracht kommenden Untersuchungen, wie eine Bestimmung des N- und des Fettgehaltes der ganzen Tierleiber am Ende der Versuchsreihen, nicht vorgenommen habe. Die Frage, die zu beantworten versucht werden soll, ist die, wieso durch das Plus an verbranntem Eiweiß eine nachweisbare Erhöhung des Fettverbrauchs und des Energieverbrauchs bewirkt wird.

Die Tatsache, daß in dem einen Tiere mehr Eiweiß verbrennt als im anderen, involviert an sich noch keine Erhöhung des minimalen Energieumsatzes, denn es könnten ja entsprechend der gesteigerten Eiweißzersetzung isodynamische Mengen von Fett eingespart werden: der Energieumsatz bliebe dann unverändert. Oder aber es könnte ja trotz der reichlicheren Eiweißverbrennung die Fettverbrennung unverändert und in allen Hunden die gleiche sein: der Energieumsatz wäre dann bloß um einen Betrag erhöht, der der Mehrzersetzung an Eiweiß entspricht. In meinen Versuchsreihen ist aber nicht nur keine Verminderung, sondern im Gegenteil eine sicher nachweisbare Steigerung der Fettverbrennung, daher aus doppelten Gründen ein gesteigerter Energieumsatz klar ersichtlich. Es muß hierfür ein spezieller Grund vorliegen, der in der gesteigerten Eiweißverbrennung selbst liegt.

Was die Ursache dieser Erscheinung, die auch als spezifisch dynamische Wirkung des in erhöhter Menge verbrennenden Körpereiwisses angesehen werden kann, anbelangt, glaube ich folgende Erklärung geben zu dürfen, jedoch mit dem ausdrücklichen Hinweis, daß zunächst an nichts mehr als eine Arbeitshypothese gedacht werden soll; um so eher, da für meine Annahmen noch keinerlei strikte Beweise vorliegen.

Ich nehme die Möglichkeit an, daß intermediäre oder Endabbauprodukte des Eiweißes entweder am Ort ihrer Entstehung oder, nachdem sie in den Säftestrom gelangten, an entfernten Stellen auf die Fettsubstanz des Körpers chemisch einwirken, wodurch das Fett leichter als sonst der Verbrennung anheimfällt.

(Eine solche die Fettverbrennung befördernde Rolle wird ja auch den Kohlenhydraten als antiketogenen Substanzen zugeschrieben, die, wenn in genügender Menge vorhanden, die Anhäufung ungenügend oxydierter, intermediärer Fettabbauprodukte, wie der β -Oxybuttersäure, verhindern.)

Man müßte sich nur für diese chemische Wirkung von Eiweißabbauprodukten auf Fette ein bestimmtes Äquivalenzverhältnis vorstellen, um zu begreifen, daß durch eine Mehrverbrennung von 1 g Eiweiß annäherungsweise immer eine Mehrverbrennung von 1 g Fett bewirkt wird.

Ist dies alles richtig, so ist es auch verständlich, warum die absoluten, d. h. nicht reduzierten Werte des Energieumsatzes scheinbar regellos variieren (Tabelle III), indem kleinere und größere Tiere dieselben Wärmemengen produzieren können, und umgekehrt solche von derselben Größe verschiedene Wärmemengen; ferner auch, warum sogar die auf Einheit des Körpergewichts oder der Oberfläche reduzierte Wärmeproduktion verschiedener Tiere so bedeutend verschieden sein kann (Tabelle IV).

In einem Tiere verbrennt nämlich bloß so viel Eiweiß, als aus dem in Tabelle IV ersichtlichen Minimum auf sein Gewicht oder auf seine Oberfläche zu berechnen ist; in einem anderen vom gleichen Gewicht beträchtlich mehr; dieses Plus zieht eine Mehrverbrennung von Fett nach sich, wodurch dann nicht nur die absoluten, sondern auch die reduzierten Werte für die Wärmeproduktion nun höher ausfallen müssen.

Allerdings bliebe noch die Frage unbeantwortet, warum im Falle des minimalen Eiweißverbrauchs verbranntes Eiweiß und Fett sich verhalten wie 1:3,3, im Falle ausgiebigerer Eiweißverbrennung aber Eiweiß- und Fettplus sich verhalten wie 1:1.

Ich habe auch versucht, in einigen Versuchen mit Fleischfütterung — eigener und anderer Autoren — das Verhältnis

zwischen verbranntem Nahrungseiweiß und Körperfett zu berechnen. Diese Berechnungen ergaben zunächst noch kein einheitliches und deutlich übersehbares Resultat, ließen jedoch erkennen, daß hier einem Plus von 1 g des verbrannten Nahrungseiweißes eine weit geringere Steigerung des Energieumsatzes entspricht.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen lassen sich kurz in folgendem zusammenfassen:

1. Der auf 1 qm Körperoberfläche berechnete Erhaltungsumsatz bei der kritischen Temperatur an den ersten (2 bis 8) Hungertagen untersuchter Hunde ist nicht gleich; er schwankt etwa zwischen 700 und 1000 kg-Cal.

2. Die Größe des minimalen, auf 1 qm bezogenen Energieumsatzes ist von der Körpergröße der Hungertiere unabhängig; sie hängt direkt ab von der Menge des zerfallenen Körpereiwweißes.

3. Die Steigerung des Energieumsatzes rührt außer von der gesteigerten Eiweißzersetzung auch von einer Mehrverbrennung von Fett her, die auch als spezifisch dynamische Wirkung des zerfallenden Körpereiwweißes angesehen werden kann.

4. Diese am Hungertier beobachtete Wirkung ist vielleicht so zu deuten, daß Abbauprodukte des Körpereiwweißes etwa durch eine Art chemischer Einwirkung auf das Fett dieses in erhöhter Menge der Verbrennung zuführen.

Energieumsatz bei chronischer Unterernährung.

Von

Paul Hári.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: Franz Tangl.]

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Es ist bekannt, daß der Energieumsatz längere Zeit hindurch hungernder Tiere, auch wenn derselbe auf die Einheit der Körperoberfläche berechnet wird, allmählich, bald schneller, bald langsamer, abnimmt.

Namentlich sind es Rubners Versuche, in denen diese Erscheinung klar zutage tritt. In nachstehendem habe ich einige derselben berechnet und zusammengestellt.

Kaninchen III¹⁾ hatte 18 Tage lang bei einer Temperatur von 15 bis 20,4° C gehungert; während dieser Zeit hatten sich die pro 1 qm berechnete Eiweißzersetzung und die Wärmeproduktion (indirekt bestimmt) so verändert, daß die Eiweißzersetzung von 16,7 auf 100 g angestiegen, die Wärmeproduktion von 739 kg Cal. auf 466 abgesunken war.

Ein 9 kg schwerer Hund²⁾ hatte 4 Tage lang bei 17,6 bis 24,8° C gehungert, erhielt dann durch 4 Tage täglich 40 bis 100 g Fett, hungerte weiterhin noch 7 Tage lang; an den genannten 11 Hungertagen war die Eiweißzersetzung wenig angestiegen, die Wärmeproduktion von 1211 auf 886 Cal. gesunken.

Ein 5,3 kg schwerer Hund³⁾ wurde längere Zeit hindurch

¹⁾ M. Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung S. 274 bis 275.

²⁾ Derselbe, ibidem S. 302.

³⁾ Derselbe, ibidem S. 319, 320, 323.

bei 33° C untersucht. Er wurde periodenweise abwechselnd gefüttert und hungern gelassen. Auch in diesem Falle war die Wärmeproduktion von 907 auf 758 Cal. gesunken.

Bereits Rubner hatte aus einer annähernden Berechnung ermittelt, daß der Abnahme des Eiweißbestandes eine entsprechende Abnahme der Wärmeproduktion entspricht. Daß als Ursache des abnehmenden Energieumsatzes der abnehmende Eiweißbestand der Tiere anzusehen ist, wurde am schärfsten von E. Voit¹⁾ betont; nach ihm nimmt „... der Energiebedarf eines Hungertieres ... nicht proportional der Oberfläche ab, sondern vermindert sich in dem Maße, als der Eiweißbestand des Tieres sinkt“. Voit bezieht sich hierbei teils auf die vorerwähnten, teils auf zahlreiche andere Versuche.

Aus neuester Zeit liegt eine Versuchsreihe von Zuntz²⁾ vor, in der ein Hund durch beinahe 13 Monate unzureichend ernährt wurde und an ihm während dieser Zeit wiederholt Respirationsversuche in der Dauer von 6 bis 20 Stunden mit direkter O₂-Bestimmung ausgeführt wurden. Das Ergebnis war, daß sich die pro 24 Stunden um 1 qm berechnete Wärmeproduktion von etwa 1000 kg-Cal. auf etwas über 600 verminderte, und erst 2 Wochen vor dem Tode des Tieres wieder stark anstieg.

Nun könnte man gegen die genannten Versuche zunächst einwenden, daß sie mit Ausnahme einer Versuchsreihe von Rubner und einiger der Zuntzschen Reihen meist unterhalb der kritischen Temperatur angestellt wurden. Und wenn auch durch dieselben das Absinken der pro 1 qm berechneten Wärmeproduktion als sichergestellt betrachtet werden kann, ist es möglich, daß Verschiedenheiten im Fettpolster, in der Haarbekleidung sowie andere individuelle Verschiedenheiten der Tiere ihre Wärmeproduktion ungleichmäßig beeinflusst haben. Wurde doch in einer vorangehenden Arbeit³⁾ gezeigt, daß so-

¹⁾ Erwin Voit, Über die Größe des Energiebedarfs im Hungerzustande. Zeitschr. f. Biol. 41, 147.

²⁾ N. Zuntz, Einfluß chronischer Unterernährung auf den Stoffwechsel. Diese Zeitschr. 55, 341.

³⁾ Paul Hári, diese Zeitschr., dieser Bd. S. 1 bis 19.

gar die Wärmeproduktion verschiedener bei der kritischen Temperatur untersuchten Tiere eine sehr verschiedene sein kann. Ferner wurde in allen oben angeführten früheren Versuchen die Wärmeproduktion bloß aus den Zersetzungen bzw. aus der Sauerstoffaufnahme berechnet und nicht direkt bestimmt, was aus Gründen der Sicherheit der Resultate entschieden als ein Mangel anzusehen ist.

Ich habe in meinen nun zu besprechenden Versuchen für bessere Versuchsbedingungen gesorgt. Um etwaige Veränderungen möglichst zu vermeiden, die der protrahierte Hunger im Ablaufe der chemischen Vorgänge, namentlich in qualitativer Hinsicht, schaffen kann, hielt ich es für angezeigt, die Tiere nicht während der ganzen Versuchsdauer hungern zu lassen, sondern sie, wenn auch unzureichend, zu ernähren, wie es Zuntz in seinem Versuche tat. Ferner habe ich alle Versuche bei oder wenigstens in der Nähe der kritischen Temperatur angestellt und die Wärmeproduktion in allen meinen Versuchsreihen direkt bestimmt, in der Mehrzahl derselben auch aus den Zersetzungen berechnet.

Zu den Versuchen habe ich ausgewachsene Hündinnen verwendet, die teilweise schon zu anderen Versuchen gedient hatten und sowohl an das Katheterisieren als an den längeren Aufenthalt im Respirationsschrank gewöhnt waren.

Die Tiere erhielten Wochen vorher ein gleichmäßiges gemischtes Futter, das aus den Speiseresten und Küchenabfällen eines Krankenhauses bestand. Dann wurde ihnen die Nahrung entzogen und an ihnen innerhalb des 2. bis 6. Versuchstages je zwei Respiationsversuche von je 20 bis 22stündiger Dauer im Rubnerschen Respiationscalorimeter bei 27 bis 29° C vorgenommen. Nun erhielten sie täglich eine bestimmte Menge von Milch vorgesetzt, die jedoch nicht hinreichte, um ihren Energiebedarf völlig zu decken, und die sie sofort verzehrten. Gleich nachher wurden sie in den Respiationskasten gesetzt. Die Respiationsversuche wurden in einigen Versuchsreihen täglich, in anderen aber in Zwischenräumen von 1 bis 2 Tagen vorgenommen.

Ich muß bemerken, daß den Tieren die Milch in drei Versuchsreihen bloß kalt, in anderen drei Versuchsreihen aber abwechselnd kalt und warm vorgesetzt wurde. Dies hatte den

Zweck, etwaige Unterschiede in der Einwirkung kalt und warm genossener Nahrung zu prüfen, einer Frage, deren Lösung eine bereits publizierte Arbeit¹⁾ zum Vorwurf hatte.

Die Wärmeproduktion der Tiere wurde nicht nur direkt bestimmt, sondern konnte in vier von sechs Versuchsreihen auch aus den Zersetzungen berechnet werden, indem nebst dem N- auch der gesamte C-Umsatz bestimmt wurde und so auch der Eiweiß- und Fettumsatz festgestellt werden konnte. Allerdings muß ich bemerken, daß bei dieser Berechnung das Glykogen vernachlässigt wurde, was zwar bei Hungertieren vom zweiten oder dritten Hungertage ab ohne weiteres tunlich ist, weit weniger jedoch an gefütterten Tieren. In der Tat zeigt sich beim Vergleich der durch Berechnung aus den Zersetzungen und durch direkte Calorimetrie ermittelten Werte für die Wärmeproduktion ein stellenweise recht großer Unterschied, der jedoch nicht so groß ist, daß er die Sicherheit der direkt ermittelten Werte beeinträchtigen könnte.

Der Harn wurde durch Katheterisieren und Blasenspülung 24stündlich, der Kot mittels Kieselsäure periodenweise abgegrenzt. Der Stickstoff wurde in den Exkreten und der Milch nach Kjeldahl unter Benutzung von metallischem Quecksilber als Katalysator, der Kohlenstoff in den Exkreten und der Milch auf nassem Wege nach dem von Tangl und Kereszty²⁾ modifizierten Verfahren von Messinger, Brunner und Scholz der Energiegehalt der Exkrete und der Milch durch Verbrennung in einer modifizierten Berthelot-Mahlerschen Bombe bestimmt.

Insgesamt wurden sechs Versuchsreihen (an 6 Hunden) angestellt.

a) In allen Versuchsreihen wurde die Kohlensäure- und Wasserproduktion bestimmt, die Sauerstoffaufnahme und der respiratorische Quotient berechnet. In Versuchsreihe I war die Berechnung der Sauerstoffaufnahme bloß in einem Ver-

¹⁾ Paul Háy und Stephan v. Pesthy, Hat die Temperatur der Nahrung einen Einfluß auf den Gaswechsel des Menschen? Diese Zeitschr. 44, 6.

²⁾ Franz Tangl und G. v. Kereszty, Zur Methodik der Bestimmung des Kohlenstoffs auf nassem Wege. Diese Zeitschr. 53, 21.

such möglich; in Versuchsreihe II aber blieb sie in allen Versuchen problematisch, da die Kohlensäurebestimmung unsicher war.

b) In Versuchsreihen III bis VI wurde der gesamte N- und C-Umsatz bestimmt, und aus diesen Daten auch der Eiweiß- und Fettverbrauch sowie die Wärmeproduktion berechnet (indirekte Calorimetrie).

c) In allen Versuchsreihen wurde die Kohlensäureproduktion an den Milchtagen in zwei ungleichen Perioden untersucht; die erste Periode folgte unmittelbar der Milchaufnahme und hatte eine Dauer von 5 bis 8 Stunden; die zweite längere Periode dauerte bis zum Schluß des Versuchs. In Versuchsreihe VI wurde die CO_2 -Bestimmung auch an den beiden Hungertagen in zwei Perioden getrennt vorgenommen.

d) In allen Versuchsreihen wurde die Wärmeproduktion durch direkte Calorimetrie bestimmt, und zwar in Versuchsreihe I, V und VI an den Milchtagen in zwei ungleichen Perioden von verschiedener Dauer, in Versuchsreihe VI auch an beiden Hungertagen.

Die Ergebnisse der Versuche

sind in nachfolgenden Tabellen I bis XIV ersichtlich.

Tabelle I enthält die allgemeinen Daten der Respirationsversuche; Tabelle II die Werte für Kohlensäure- und Wasserausgabe sowie für die berechnete Menge des Sauerstoffverbrauchs und den respiratorischen Quotienten; Tabelle III die Daten für den gesamten N- und C-Verkehr und die hieraus berechneten Werte für den Eiweiß-Fettverbrauch und den Energieumsatz (indirekte Calorimetrie) in den Versuchsreihen III bis VI; Tabelle IV die Daten für die direkt bestimmte Wärmeproduktion. Bei der Reduktion auf die Einheit des Körpergewichts und der Körperoberfläche wurde jedesmal das Gewicht am Anfang des betreffenden Versuchs (und nicht, wie üblich, das mittlere Körpergewicht) verwendet.

Aus Tabelle IV, in der die Ergebnisse der direkten Calorimetrie zusammengestellt sind, ist ohne weiteres ersichtlich, daß die auf 1 qm Körperoberfläche reduzierte Wärmeproduktion

verschiedener Tiere am zweiten bis fünften Hungertag verschieden groß ist. Auf diese Erscheinung soll, da ihre Erklärung teilweise an der Hand der hier mitgeteilten Versuchsreihen in der vorangehenden Mitteilung¹⁾ gegeben wurde, an dieser Stelle nicht mehr eingegangen werden. Hier sollen nur die bedeutenden Unterschiede besprochen werden, die sich an einem und demselben Tiere im Verlaufe der chronischen Unterernährung zeigen.

Tabelle I.

Versuchsreihe	Versuchsnummer	Datum des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs Std.	Ventilation pro 24 Stunden cbm	Mittlere Temperatur des Tieres ° C	Körpertemperatur des Tieres			Körpergewicht		Anmerkungen
							am Beginn d. Versuchs ° C	am Ende d. Versuchs ° C	am Ende d. Versuchs ° C	am Beginn d. Versuchs g	am Ende d. Versuchs g	
I	1	8.—9. II. 1909	3 ^h 57' nachm.	18,35	32,6	27,6	37,9	38,3		3464	3373	2. Hungertag.
	2	9.—10.	3 ^h 45' "	17,20	37,4	27,6	38,3	39,3		3331	3221	3. Hungertag.
	3	10.—11.	11 ^h 12' vorm.	22,00	36,7	27,7	37,7	38,3		3221 ^{a)}	3200	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 5° getrunken, da- von ein unbestimmt gebliebener Anteil im Respirations- kasten erbrochen.
II	4	18.—19. I. 1910	10 ^h 37' vorm.	22,63	26,2	27,0	37,8	38,6		3467	3364	3. Hungertag.
	5	21.—22.	9 ^h 15' "	23,25	26,9	27,1	37,3	38,1		3168	3076	6. Hungertag.
	6	24.—25.	9 ^h 28' "	23,42	19,6	27,4	36,2	37,5		3028 ^{a)} 3235 ^{a)}	3072	Vor dem Versuch 200 ccm kalte Milch getrunken.
	7	26.—27.	9 ^h 40' "	23,17	18,9	27,5	36,9	38,2		2919 3128	2958	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 5° getrunken.
III	8	2.—3. II. 1910	9 ^h 26' vorm.	23,57	20,0	27,2	39,0	38,6		3345	3196	3. Hungertag.
	9	4.—5.	9 ^h 28' "	23,28	21,6	27,2	38,3	38,6		3112	2976	5. Hungertag.
	10	7.—8.	9 ^h 42' "	22,56	22,3	27,3	37,4	38,3		2879 ^{a)} 3078 ^{a)}	2883	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 9° getrunken.
	11	9.—10.	9 ^h 37' "	23,00	21,6	27,4	36,0	37,8		2828 ^{a)} 3033 ^{a)}	2774	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 7° getrunken.
	12	11.—12.	9 ^h 50' "	23,09	24,7	27,4	37,4	37,5		2713 ^{a)} 2911 ^{a)}	2674	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 57° getrunken.
	13	14.—15.	10 ^h 30' "	22,15	20,7	27,1	36,5	37,4		2492 ^{a)} 2690 ^{a)}	2425	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 54° getrunken.

¹⁾ Paul Hári, l. c.²⁾ Vor der Milch.³⁾ Nach der Milch.

Tabelle I
(Fortsetzung).

Versuchsreihe	Versuchsnummer	Datum des Versuchs	Beginn des Versuchs	Dauer des Versuchs Std.	Ventilation pro 24 Stunden cbm	Mittlere Temperatur des Tieres ° C	Körper- tempe- ratur des Tieres		Körper- gewicht		Anmerkungen
							am Beginn ° C	am Ende ° C	am Beginn g	am Ende g	
IV	14	6.— 7. III. 1911	11 ^h 33' vorm.	21,78	20,6	23,0	39,4	39,0	3528	3365	3. Hungertag.
	15	8.— 9.	9 ^h 34' "	23,42	25,9	27,4	38,4	39,1	3337	3161	5. Hungertag.
	16	10.—11.	5 ^h 15' nachm.	19,41	24,0	27,5	38,6	39,2	3158 ¹⁾ 3358 ²⁾	3134	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 52° getrunken.
	17	12.—13.	9 ^h 45' vorm.	22,66	26,4	27,1	39,0	38,9	3082 ¹⁾ 3282 ²⁾	3085	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 55° getrunken.
	18	14.—15.	12 ^h 10' nachm.	21,61	22,1	27,4	37,6	39,1	3034 ¹⁾ 3237 ²⁾	3031	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 6° getrunken.
	19	16.—17.	9 ^h 30' vorm.	22,85	26,5	27,4	37,7	38,7	2979 ¹⁾ 3182 ²⁾	2978	Vor dem Versuch 200 ccm Milch von 5° getrunken.
V	20	22.—23. XI. 1911	10 ^h 30' vorm.	22,33	37,2	29,0	38,2	37,8	6030	5890	3. Hungertag.
	21	23.—24.	4 ^h 50' nachm.	16,42	36,7	29,1	38,3	37,7	5845	5779	4. Hungertag.
	22	24.—25.	12 ^h 30' "	20,00	37,7	29,0	37,1	37,8	5732 ¹⁾ 6017 ²⁾	5894	Vor dem Versuch 285 ccm Milch von 3° getrunken.
	23	25.—26.	11 ^h 58' vorm.	20,50	40,4	29,0	37,7	37,9	5829 ¹⁾ 6114 ²⁾	5998	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 5° getrunken.
	24	27.—28. XI. 1911	10 ^h 15' vorm.	21,21	41,5	28,9	38,4	37,6	5809 ¹⁾ 6109 ²⁾	6011	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 52° getrunken.
	25	28.—29.	10 ^h 42' "	20,80	40,8	28,9	38,0	37,5	5888 ¹⁾ 6175 ²⁾	5960	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 55° getrunken.
VI	26	12.—13. XII. 1911	11 ^h 00' vorm.	21,50	38,4	29,2	38,4	38,8	6500	6193	3. Hungertag.
	27	13.—14.	11 ^h 45' "	20,25	39,8	29,2	38,2	38,8	6351	6070	4. Hungertag.
	28	14.—15.	11 ^h 30' "	20,50	38,4	29,3	38,2	39,2	6030 ¹⁾ 6330 ²⁾	6000	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 56° getrunken.
	29	15.—16.	11 ^h 30' "	20,75	38,4	29,1	38,2	39,4	5983 ¹⁾ 6278 ²⁾	5931	Vor dem Versuch 295 ccm Milch von 50° getrunken.
	30	16.—17.	12 ^h 30' nachm.	20,25	36,0	29,3	37,1	39,4	5898 ¹⁾ 6198 ²⁾	5871	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 0° getrunken.
	31	17.—18.	12 ^h 00' mitt.	20,50	43,2	29,2	36,8	38,9	5856 ¹⁾ 6156 ²⁾	5903	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 3° getrunken.
	32	18.—19.	12 ^h 00' "	20,25	43,2	29,2	37,9	38,3	5866 ¹⁾ 6166 ²⁾	5945	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 56° getrunken.
	33	19.—20.	11 ^h 45' vorm.	20,75	43,2	29,0	38,1	38,4	5910 ¹⁾ 6210 ²⁾	5966	Vor dem Versuch 300 ccm Milch von 56° getrunken.

¹⁾ Vor der Milch.

²⁾ Nach der Milch.

Tabelle II.
CO₂- und H₂O-Abgabe, O₂-Aufnahme, respir. Quotient.

Versuchsreihe	Versuchs Nr.	Mit der Ventilation sluft abgeföhrt		Im Respirationakasten entleert		Körpergew.		O ₂ -Aufnahme	Respiratorischer Quotient	Pro 24 Std.		Pro 24 Std. und 1 qm Körper- oberfläche O ₂ -Aufnahme	An- merkungen
		CO ₂ g	H ₂ O g	Harn g	Kot g	am Beginn des Versuchs g	am Ende des Versuchs g			CO ₂ -Pro- duk-tion g	O ₂ - Aufnahme g		
I	1	44,0	56,4	27,7	—	3464,0	3373,0	37,0	0,865	57,5	48,4	175	Hungertag
	2	?	44,9	32,5	—	3331,0	3221,0	?	?	?	?	?	"
	3	72,2	Harn, Erbrochenes und Kot vermengt				3221,0	?	?	?	?	?	Milchtag
II ¹⁾	4	78,8	107,1	—	—	3467,0	3364,0	82,9	0,691	83,6	87,9	317	Hungertag
	5	69,6	89,8	—	—	3168,0	3076,0	67,9	0,746	71,9	70,1	290	"
	6	73,3	101,8	54,3	—	3235,0	3072,0	65,8	0,811	75,2	67,4	287	Milchtag
	7	73,5	99,2	63,7	—	3128,0	2958,0	66,6	0,803	86,0	69,0	302	"
III	8	83,5	143,3	—	—	3345,5	3195,8	77,0	0,788	85,0	78,4	313	Hungertag
	9	71,4	133,7	—	—	3112,1	2976,0	69,0	0,753	73,6	71,1	298	"
	10	68,9	110,9	68,2	—	3078,0	2883,4	53,4	0,936	68,9	56,8	251	Milchtag
	11	65,3	104,5	133,3	—	3033,4	2774,4	44,1	1,078	68,1	46,0	205	"
	12	61,9	113,6	113,0	0,6	2911,5	2674,0	51,6	0,876	64,4	53,6	246	"
	13	57,4	113,5	137,3	1,3	2690,0	2424,7	44,2	1,044	62,0	47,9	232	"
IV	14	74,5	100,2	47,5	0,5	3528,5	3365,5	59,7	0,904	82,1	65,9	254	Hungertag
	15	72,3	86,8	88,1	—	3337,2	3161,2	67,8	0,794	74,1	67,8	271	"
	16	58,5 ²⁾	94,2	116,1	—	3359,0	3134,5	44,3	0,961	72,4	54,8	227	Milchtag
	17	65,3	77,9	112,4	—	3282,5	3085,5	?	?	?	?	?	"
	18	57,3	73,2	118,8	—	3237,0	3031,0	43,3	0,960	63,6	48,1	205	"
	19	56,7	54,7	137,3	—	3182,5	2978,0	44,3	0,932	59,6	46,5	199	"
V	20	70,5	100,1	35,5	—	6030,0	5890,0	66,1	0,777	75,6	71,0	191	Hungertag
	21	50,0	60,1	—	—	5845,5	5779,0	43,6	0,834	73,1	63,7	175	"
	22	71,6	106,6	—	—	6017,0	5894,0	55,2	0,943	85,9	66,2	184	Milchtag
	23	70,6	106,3	—	—	6114,0	5998,0	60,9	0,844	82,6	71,3	196	"
	24	70,8	93,1	—	—	6109,0	6011,0	66,0	0,780	78,2	72,8	201	"
	25	74,3	115,7	92,2	—	6175,0	5960,5	67,8	0,797	85,6	78,2	214	"
VI ³⁾	26	108,6	264,0	37,0	—	6500,0	6193,0	102,6	0,769	121,2	114,5	294	Hungertag
	27	99,8	244,6	29,5	—	6351,5	6070,0	91,8	0,790	118,3	108,8	283	"
	28	111,8	277,5	12,7	17,8	6330,0	6000,0	89,8	0,905	130,8	105,1	283	Milchtag
	29	120,0	312,7	18,7	—	6278,0	5931,0	104,5	0,835	138,8	120,8	327	"
	30	106,4	243,8	20,6	27,0	6198,0	5871,0	?	?	126,1	?	?	"
	31	105,8	218,3	22,8	—	6156,0	5903,0	94,0	0,819	123,9	112,8	310	"
	32	92,2	186,4	9,9	—	6166,5	5945,5	?	?	109,2	?	?	"
	33	98,0	198,0	23,9	12,3	6210,0	5966,0	88,4	0,807	111,3	104,8	286	"

¹⁾ CO₂-Bestimmung auf etwa 10% unsicher; daher auch die Werte für den Sauerstoffverbrauch und des respiratorischen Quotienten problematisch sind.

²⁾ CO₂-Bestimmung unsicher, daher die Berechnung der O₂-Aufnahme untunlich.

³⁾ In Versuch 30 und 32 ist offenbar die Körpergewichtsbestimmung fehlerhaft gewesen, da die Berechnung des O₂-Verbrauches ganz unmögliche Werte ergeben hatte.

Tabelle III. Wärmeproduktion, aus den Zersetzungen berechnet.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	N pro 24 Std. in Gramm		Eiweiß-Bilanz in Gramm		C pro 24 Std. in Gramm					Fett-Bilanz in Gramm		Energie-Gehalt in Kilogramm-Cal.							Anmerkungen	
		Bilanz		Bilanz		in der Milch eingeführt		Ausgaben			in der ausgeatmeten CO ₂		Bilanz		des deponierten Fettes		zusammen (b)		Wärme-Produktion pro 24 Std. (a - b) in Kilogramm-Cal.		
		In der Milch eingeführt	Ausgaben in Harn und Kot				in Harn	im Kot	zusammen				des verbrauchten Körper-Fettes	des verbrauchten Körper-Eiweißes	des Harns (inkl. Spülwasser)	des deponierten Eiweißes	des deponierten Fettes	zusammen (b)			
III	8	—	1,32	-1,32	-8,23	—	23,18	0,98	0,38	24,55	-24,55	-26,30	—	46,5	247,2	298,7	13,3	4,3	—	17,6276,1	Hungertag
	9	—	2,11	-2,11	-13,20	—	20,08	1,33 ¹⁾	0,38	22,29	-22,29	-19,97	—	74,6	187,7	262,3	13,3	4,3	—	17,6244,6	"
	10	1,16	1,96	-0,80	5,00	14,13	20,00	1,32	0,63	21,95	-7,82	-6,76	150,8	28,2	63,5	242,5	16,6	10,0	—	26,6215,9	Milchtag
	11	1,16	2,41	-1,25	7,81	14,13	18,58	1,43	0,63	20,63	-6,50	-2,40	150,8	44,1	29,3	224,2	16,6	10,0	—	26,6197,5	"
	12	1,16	2,76	-1,59	9,96	15,46	17,56	1,56	0,45	19,57	-4,11	-1,44	170,0	56,3	—	226,2	14,6	3,1	—	13,531,2	"
IV	13	1,16	3,43	-2,26	14,14	15,46	16,92	2,08	0,45	19,44	-3,98	-4,47	170,0	79,9	—	249,9	14,6	3,1	—	42,059,7	"
	14	—	2,06	-2,06	-12,87	—	22,39	1,92	0,43	24,74	-24,74	-23,87	—	72,7	219,7	292,4	18,5	4,1	—	22,6269,8	Hungertag
	15	—	1,96	-1,96	-12,25	—	20,21	1,82	0,43	22,46	-22,46	-20,84	—	69,2	195,9	265,1	18,5	4,1	—	22,6242,5	"
	16	1,17	1,76	-0,59	3,69	16,77	19,75	2,34	0,99	23,08	-6,31	-5,69	183,3 ²⁾	20,8	53,5	257,6	16,3 ³⁾	11,7	—	28,0229,7	Milchtag
	17	1,17	1,67	-0,50	3,12	16,77	18,87 ³⁾	1,35	0,99	?	?	?	183,3	17,6	?	?	16,3 ³⁾	11,7	—	28,0	"
V	18	1,17	1,46	-0,29	1,81	11,82	17,35	1,18	0,71	19,24	-7,42	-8,41	134,6	18,1	79,0	231,7	11,1	8,6	—	19,7212,0	"
	19	1,17	1,59	-0,42	2,61	11,82	16,25	1,30	0,71	18,26	-6,44	-6,59	134,6	14,6	61,9	211,2	11,1	8,6	—	19,7191,4	"
	20	—	1,04	-1,04	6,48	—	20,67	1,06	—	21,73	-21,73	-23,82	—	36,6	223,9	260,5	13,4	—	—	18,4247,1	Hungertag
	21	—	1,29	-1,29	8,04	—	19,92	0,83	—	20,75	-20,75	-21,48	—	45,4	201,9	247,3	13,4	—	—	18,4233,9	"
	22	1,59	1,71	-0,12	0,75	19,81	23,42	1,99	0,38	25,19	-5,38	-6,49	215,9	4,2	61,0	281,1	17,6	3,9	—	21,5259,6	Milchtag
VI	23	1,59	?	-0,12 ⁴⁾	0,75 ⁵⁾	19,81	22,53	1,39	0,38	24,30	-4,49	-5,35	215,9	4,2 ⁶⁾	30,6	270,2	17,6 ⁶⁾	3,9	—	21,5248,7	"
	24	1,60	1,29	+0,31	1,91	21,34	21,31	1,15	0,38	22,84	-1,50	-3,25	236,2	2,1	30,6	266,8	13,0	3,9	10,8	27,7239,1	"
	25	1,53	1,59	-0,06	0,38	20,42	23,39	1,41	0,38	25,18	-4,77	-5,94	226,0	2,1	55,8	283,9	15,9	3,9	—	19,8264,1	"
	26	—	2,20	-2,20	-13,75	—	33,05	1,94	—	34,99	-34,99	-36,10	—	77,7	339,3	417,0	20,4	—	—	20,4336,6	Hungertag
	27	—	1,96	-1,96	-12,48	—	32,35	1,58	—	33,93	-33,93	-35,75	—	70,2	336,8	407,1	20,4	—	—	20,4336,7	"
VII	28	1,66	2,00	-0,34	2,12	19,80	35,68	1,85	1,58	39,11	-19,31	-23,60	220,9	12,0	221,8	454,7	17,5	18,2	—	35,7419,0	Milchtag
	29	1,63	2,17	-0,54	3,37	19,47	37,86	1,64	1,58	41,08	-21,61	-25,79	217,3	19,0	242,4	478,8	17,5	18,2	—	35,7443,1	"
	30	1,66	1,70	-0,04	0,25	19,80	34,40	1,42	1,58	37,40	-17,60	-22,71	220,9	1,4	213,5	435,8	16,6	18,2	—	34,8401,0	"
	31	1,66	1,88	-0,22	1,37	19,80	33,80	1,64	1,58	37,02	-17,22	-21,45	220,9	7,7	201,6	430,3	16,6	18,2	—	34,8395,5	"
	32	1,59	1,52	+0,07	0,44	19,72	29,79	1,43	1,58	32,80	-13,08	-17,30	199,0	—	162,6	361,6	16,0	18,2	2,5	36,7324,9	"
VIII	33	1,59	1,73	-0,14	0,88	19,72	30,37	1,64	1,58	33,59	-13,87	-17,44	199,0	5,0	163,9	367,9	16,0	18,2	—	34,2333,7	"

¹⁾ C-Bestimmung verunglückt; aus dem N : C-Verhältnis im vorangehenden Versuche berechnet. — ²⁾ CO₂-Bestimmung auf etwa 10% unseiner; daher zur indirekten Calorimetrie nicht zu verwenden. — ³⁾ Energiegehalt der Milch aus dem Vergleich des Fettgehaltes dieser Milch und des Fett- und Energiegehaltes der Milch in den übrigen Versuchsreihen berechnet. — ⁴⁾ Harn mit etwas Kot vermisch. — ⁵⁾ Harn verloren; Wert vom vorangehenden Versuch verwendet.

Tabelle IV.
Wärmeproduktion direkt bestimmt,

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Wärmeabgabe pro 24 Std. in Kilogramm-Cal.				E. Der Gewichte- und Temperaturveränderung des Tieres entspricht eine Korrektur von kg-Cal.	Wärme- produktion pro 24 Std. (A — B) kg-Cal.	Wärme- produktion pro 24 Std. und		Anmerkungen
		an das Calorimeter abgegeben	mit der Ventilations- luft abgeführt	Verdampfungswärme des Wasserdampfes in der Ventilationsluft	A. Gesamte Wärme- abgabe			1 kg Körper- gewicht ¹⁾	1 qm Körper- oberfläche ²⁾	
I.	1	189,6	19,3	43,3	252,3	— 1,7	250,6	72,3	905	3. Hungertag
	2	170,5	25,5	41,1	237,1	— 0,7	236,4	71,0	946	3. "
	3	162,1	19,6	63,1	244,8	+ 0,9	245,7	88,0	1161	Milchtag
II.	4	175,0	10,4	66,7	252,2	— 1,1	251,1	72,4	906	3. Hungertag
	5	171,8	9,2	54,4	235,5	— 0,9	234,6	74,0	972	6. "
	6	131,4	8,5	61,3	201,1	— 1,8	199,3	65,8	850	Milchtag
	7	135,5	7,8	60,4	203,7	— 1,9	201,8	69,1	880	"
III.	8	173,7	12,2	85,7	271,6	— 5,7	265,9	79,5	1061	3. Hungertag
	9	148,3	11,4	80,9	240,6	— 3,5	237,1	76,2	993	5. "
	10	116,2	9,7	69,3	195,2	— 3,7	191,5	66,5	845	Milchtag
	11	125,1	9,1	64,0	198,2	— 3,6	194,6	68,8	869	"
	12	103,8	8,6	69,4	181,8	— 5,3	176,5	65,1	810	"
	13	89,6	7,1	72,3	168,9	— 5,8	163,1	65,4	792	"
IV.	14	224,9	10,7	64,8	300,4	— 6,4	294,0	83,3	1132	3. Hungertag
	15	187,7	15,3	52,2	255,2	— 3,6	251,6	75,4	1006	5. "
	16	157,3	13,9	68,4	239,6	— 5,6	234,6	74,3	973	Milchtag
	17	165,0	15,1	52,8	222,9	— 6,4	226,5	73,5	955	"
	18	122,5	14,0	47,8	184,3	— 2,6	181,7	59,9	774	"
	19	143,6	11,5	33,7	188,8	— 3,8	185,0	62,1	798	"
V.	20	192,9	17,7	63,2	273,8	— 6,6	267,2	44,3	720	3. Hungertag
	21	166,1	15,3	51,6	233,0	— 4,8	228,2	39,0	628	4. "
	22	160,0	16,7	73,7	250,4	— 0,4	250,0	43,6	697	Milchtag
	23	158,9	20,9	68,9	248,7	— 2,8	245,9	42,2	678	"
	24	159,8	19,1	58,2	237,1	— 5,9	231,2	37,1	639	"
	25	152,3	16,7	75,8	244,8	— 8,9	235,9	36,9	646	"
VI.	26	206,5	22,1	175,0	403,6	— 7,5	396,2	60,9	1016	3. Hungertag
	27	178,1	20,1	170,9	369,1	— 5,7	363,4	57,2	946	4. "
	28	203,0	19,7	188,1	410,8	— 5,3	405,5	67,2	1093	Milchtag
	29	212,3	21,1	210,8	444,2	— 4,9	439,2	73,4	1190	"
	30	186,4	21,2	170,0	377,6	+ 1,0	378,6	64,2	1036	"
	31	195,9	19,8	149,3	365,0	+ 2,5	367,6	62,8	1010	"
	32	227,7	23,0	129,3	380,0	— 4,7	375,3	64,0	1030	"
	33	167,9	21,2	133,1	322,2	— 3,9	318,3	53,9	869	"

Ich habe in nachfolgender Tabelle V den Mittelwert der Wärmeproduktion und des Sauerstoffverbrauchs beider Hunger-

¹⁾ Berechnet aus dem Körpergewicht zu Beginn des Versuches.

²⁾ $11,2 \times \sqrt[4]{\text{Körpergewicht.}}$

tage berechnet und mit diesen die betreffenden Werte von den Milchtagen verglichen.

Tabelle V¹⁾.

Versuchsreihe	Versuchsperiode	Pro 24 Stunden und 1 qm					
		Wärmeproduktion			O ₂ -Verbrauch		
		kg-Cal	Veränderung kg-Cal	%	g	Veränderung g	%
II.	Mittel der 2 Hungertage	944			304		
	Milchtag	850	— 94	— 10	287	— 16	— 5
	"	880	— 64	— 7	302	— 2	— 1
	Mittelwerte		— 8				— 3
III.	Mittel der 2 Hungertage	1027			305		
	Milchtag (k)	845	— 182	— 18	251	— 54	— 18
	" (k)	869	— 158	— 15	205	— 100	— 32
	" (w)	810	— 217	— 21	246	— 59	— 19
	" (w)	792	— 235	— 23	233	— 72	— 24
	Mittelwerte		— 19				— 23
IV.	Mittel der 2 Hungertage	1069			262		
	Milchtag (w)	973	— 96	— 9	227	— 35	— 13
	" (w)	955	— 114	— 11	?	?	?
	" (k)	774	— 295	— 27	205	— 57	— 22
	" (k)	798	— 271	— 25	199	— 63	— 24
	Mittelwerte		— 18				— 20
I.	Mittel der 2 Hungertage	925			—	—	—
	Milchtag (k)	1161	+ 236	+ 25	—	—	—
V.	Mittel der 2 Hungertage	674			183		
	Milchtag (k)	697	+ 23	+ 3	184	+ 1	+ 0
	" (k)	687	+ 13	+ 2	196	+ 13	+ 7
	" (w)	639	— 35	— 5	201	+ 18	+ 10
	" (w)	646	— 26	— 4	214	+ 31	+ 17
	Mittelwerte		— 1				+ 8
VI.	Mittel der 2 Hungertage	981			288		
	Milchtag (w)	1093	+ 112	+ 11	283	— 5	— 2
	" (w)	1190	+ 209	+ 21	327	+ 39	+ 13
	" (k)	1036	+ 55	+ 6	?	?	?
	" (k)	1010	+ 29	+ 3	310	+ 22	+ 8
	" (w)	1030	+ 49	+ 5	?	?	?
	" (w)	869	— 112	— 11	286	— 2	— 1
	Mittelwerte		+ 6				+ 5

Man sieht, daß sich die Versuchsreihen nach ihren Ergebnissen streng in zwei Gruppen trennen lassen: in Versuchsreihe II, III und IV nehmen, trotz der täglichen Milchezufuhr,

¹⁾ „k“ resp. „w“ zeigen an, ob in diesem Versuche die Milch kalt oder warm gereicht wurde.

Energieumsatz und Sauerstoffverbrauch bedeutend ab; diese Abnahme wächst außerdem mit der Dauer der Unterernährung. Wenn man bedenkt, daß der Sauerstoffverbrauch nicht direkt bestimmt, sondern aus der Gewichtsabnahme und den Ausgaben des Tieres während des Respiationsversuchs berechnet wurde, daher alle Fehler der übrigen Bestimmungen (Kohlensäure, Wasser, Harn, Kot) summiert enthält, ist die Übereinstimmung zwischen der Abnahme der Wärmeproduktion und der des Sauerstoffverbrauchs als zufriedenstellend anzusehen; besonders wenn innerhalb jeder Versuchsreihe die Mittelwerte verglichen werden. Die andere Gruppe der Versuchsreihen, I, V und VI, verhält sich wesentlich anders, und zwar ist in Versuchsreihe I eine sehr bedeutende Zunahme der Wärmeproduktion zu konstatieren (Sauerstoffbestimmungen fehlen); in Versuchsreihe VI eine geringe, jedoch sicher nachweisbare Steigerung der Wärmeproduktion und des Sauerstoffverbrauchs; in Versuchsreihe V nimmt die Wärmeproduktion kaum merklich ab, der Sauerstoffverbrauch nimmt deutlich zu. Letztere ist die einzige von fünf Versuchsreihen, in der Wärmeproduktion und Sauerstoffverbrauch nicht parallel sich verändern. Da die Veränderung der Wärmeproduktion den zulässigen Versuchsfehler nicht, die des Sauerstoffverbrauchs aber nur wenig überschreitet, können wir füglich annehmen, daß, wenn eine Veränderung hier stattgefunden hat, dies nur in einer geringen Zunahme hat bestehen können.

Wenn wir nach einer Erklärung für das so entgegengesetzte Verhalten der Tiere in beiden Gruppen der Versuchsreihen suchen, könnten wir

a) daran denken, daß der Einfluß der Milch auf den Energieumsatz (spezifisch dynamische Wirkung oder Verdauungsarbeit) eine verschiedenartige sein kann, wenn die Milch verschiedenen Tieren in verschiedener Menge gegeben wird;

b) an eine verschiedene Wirkungsweise der einmal kalt, einmal warm getrunkenen Milch;

c) an die kürzere oder längere Dauer der vorausgegangenen Hungerperiode.

Ad a). Da in den Versuchsreihen III bis VI auch der Energiegehalt der täglich eingeführten Milch durch calorimetrische Verbrennung bestimmt wurde, konnte in diesen Ver-

suchsreihen berechnet werden, inwieweit der Energiebedarf der Tiere durch die dargereichte Milch gedeckt wurde. Bei dieser Berechnung ging ich der Einfachheit halber jedesmal vom Mittelwert der an beiden Hungertagen ermittelten Wärmeproduktion aus, und ließ den Umstand unberücksichtigt, daß der Hungerbedarf des Tieres im Laufe der weiteren Tage im Verhältnis zum abnehmenden Körpergewicht, oder was noch wahrscheinlicher ist, noch rascher als dieses abnehmen mußte.

In Versuchsreihe I und II wurde der Energiegehalt der Milch nicht durch calorimetrische Verbrennung bestimmt. Doch konnte in Versuchsreihe II aus dem durchschnittlichen Energiegehalt der in Versuchsreihen III bis VI gereichten und analysierten Milch dieselbe Berechnung schätzungsweise ausgeführt werden. In Versuchsreihe I mußte auch dies unterbleiben, da das Tier einen nicht näher bestimmbaren Anteil der Milch erbrochen hatte.

Ich habe in folgender Tabelle VI die Werte für den Hungerbedarf der Tiere, für den Energiegehalt der verzehrten Milch und für das Verhältnis zwischen beiden letzteren Werten berechnet und zusammengestellt.

Tabelle VI.

Versuchsreihe	Hungerbedarf kg-Cal	Energiegehalt der eingeführten Milch kg-Cal	Vom Hungerbedarf wurden durch die eingeführte Milch gedeckt %
II	242	ca. 170	ca. 70
III	251	151—170	60—68
IV	272	135—183	50—68
V	248	216—236	87—95
VI	379	199—221	53—58

Wie aus der Tabelle VI ersichtlich, war das verschiedene Verhalten der Wärmeproduktion in den verschiedenen Versuchsreihen nicht durch die Menge der gereichten Milch begründet. Denn wohl erhielt in Versuchsreihe I das Tier die größte Menge Milch (wovon ein Teil wieder erbrochen wurde) und war auch die Zunahme der Wärmeproduktion die allerbedeutendste, doch war in Versuchsreihe III, IV und VI das genannte Verhältnis ein nahezu gleiches, und trotzdem war in Versuchsreihe III und IV eine ansehnliche Abnahme, in Versuchsreihe VI eine

deutliche Zunahme der Wärmeproduktion nachweisbar. Und gerade in Versuchsreihe V mit der relativ großen Menge der in der Milch eingeführten chemischen Energie war bloß eine vorübergehende geringe Zunahme zu sehen.

Ad b). Bezüglich des Einflusses der kalt oder warm gereichten Milch hatte ich in der bereits erwähnten Publikation zeigen können, daß diesbezügliche Unterschiede in der Sauerstoffaufnahme am Menschen zwar nachweisbar, jedoch nur geringen Grades sind und eher auf eine Verschiebung der Wirkungsdauer der kalt oder warm genossenen Nahrung beschränkt bleiben. Auch in der hier behandelten Versuchsreihe läßt sich ein Zusammenhang zwischen der Temperatur der Milch und dem Verhalten der Wärmeproduktion nicht nachweisen, wie dies aus Tabelle V (S. 30) ersichtlich ist, in der ich in jeder Versuchsreihe bei den Milchtagen mit „k“ resp. „w“ vermerkt habe, ob die Tiere kalte oder warme Milch getrunken hatten.

Ad c). Von ausschlaggebender Bedeutung für das Verhalten der Wärmeproduktion war der Umstand, wie lange Zeit hindurch der Hund vor dem Beginne der unzureichenden Ernährung gehungert hatte.

Wie aus nachstehender Tabelle VII klar ersichtlich ist, hatten die Tiere in Versuchsreihen II, III und IV acht, resp. sechs und sechs Tage lang gehungert, und gerade in diesen Versuchsreihen war eine mehr oder minder bedeutende Abnahme der Wärmeproduktion nachzuweisen. Hingegen hatte in Versuchsreihe I, V und VI der reine Hungerzustand bloß einen, resp. vier und vier Tage gedauert; in diesen Versuchsreihen war die Wärmeproduktion entweder kaum verringert oder ausgesprochen gesteigert.

Es ließe sich hier einwenden, daß die Versuchsreihen II, III und IV, namentlich aber die beiden letzteren, sich weit mehr in die Länge zogen (15 resp. 13 Tage), als dies — um von der sehr kurzen Versuchsreihe I ganz abzusehen — in Versuchsreihen V und VI der Fall war (je 9 Tage), und daß in diesen beiden letzteren Versuchsreihen die Abnahme der Wärmeproduktion nur aus dem Grunde nicht zu konstatieren war, weil sie nicht so lange wie die anderen fortgeführt wurden.

Tabelle VII.

Versuchsreihe I				Versuchsreihe II				Versuchsreihe III				Versuchsreihe IV				Versuchsreihe V			
Art des Versuchs	g	kg-Cal	Wärme- produktion pro 24 Stunden und 1 qm	Art des Versuch	g	kg-Cal	Wärme- produktion pro 24 Stunden und 1 qm	Art des Versuchs	g	kg-Cal	Wärme- produktion pro 24 Stunden und 1 qm	Art des Versuchs	g	kg-Cal	Wärme- produktion pro 24 Stunden und 1 mg	Art des Versuchs	g	kg-Cal	Wärme- produktion pro 24 Stunden und 1 qm
1) Hunger- tag	3464	905	—	1.)	—	—	—	1.)	—	—	—	1.)	—	—	—	1.)	—	—	—
2) Milch- tag	3331	946	3467	2.)	—	—	—	2.)	—	—	—	2.)	—	—	—	2.)	—	—	—
3) Milch- tag	3221	1161	—	3.)	—	—	—	3.)	—	—	—	3.)	—	—	—	3.)	—	—	—
4) Milch- tag	—	—	—	4.)	—	—	—	4.)	—	—	—	4.)	—	—	—	4.)	—	—	—
5) Milch- tag	—	—	—	5.)	—	—	—	5.)	—	—	—	5.)	—	—	—	5.)	—	—	—
6) Milch- tag	—	—	—	6.)	—	—	—	6.)	—	—	—	6.)	—	—	—	6.)	—	—	—
7) Milch- tag	—	—	—	7.)	—	—	—	7.)	—	—	—	7.)	—	—	—	7.)	—	—	—
8) Milch- tag	—	—	—	8.)	—	—	—	8.)	—	—	—	8.)	—	—	—	8.)	—	—	—
9) Milch- tag	—	—	—	9.)	—	—	—	9.)	—	—	—	9.)	—	—	—	9.)	—	—	—
10) Milch- tag	—	—	—	10.)	—	—	—	10.)	—	—	—	10.)	—	—	—	10.)	—	—	—
11) Milch- tag	—	—	—	11.)	—	—	—	11.)	—	—	—	11.)	—	—	—	11.)	—	—	—
12) Milch- tag	—	—	—	12.)	—	—	—	12.)	—	—	—	12.)	—	—	—	12.)	—	—	—
13) Milch- tag	—	—	—	13.)	—	—	—	13.)	—	—	—	13.)	—	—	—	13.)	—	—	—
14) Milch- tag	—	—	—	14.)	—	—	—	14.)	—	—	—	14.)	—	—	—	14.)	—	—	—
15) Milch- tag	—	—	—	15.)	—	—	—	15.)	—	—	—	15.)	—	—	—	15.)	—	—	—

¹⁾ Hier wurde der Harn- und Kot-N nicht bestimmt, sondern der am nächstfolgenden oder vorangehenden Tag erhaltene Wert eingesetzt.

²⁾ Eiweißansatz.

Nun fallen aber in Versuchsreihe III ein Versuch und in Versuchsreihe IV zwei Versuche noch innerhalb der ersten neun Tage, also innerhalb der Zeitdauer der Versuchsreihen V und VI, lassen sich also mit diesen sehr wohl vergleichen. Allerdings erfolgt in Versuchen III und IV jenseits des neunten Versuchstages ein noch bedeutenderer Abfall der Wärmeproduktion, desgleichen am zehnten Tage sogar in Versuchsreihe VI. Hieraus läßt sich eben nur folgern, daß die Wärmeproduktion im Falle lange protrahierter Unterernährung schließlich in jedem Falle abnimmt — eine Tatsache, die, wie wir weiter unten sehen werden, auch recht gut begründet werden kann —; sie änderte aber nichts daran, daß in den ersten etwa neun Tagen der chronischen Unterernährung die Wärmeproduktion verschiedener Tiere sich verschieden verhält, und zwar in Abhängigkeit davon, wie lange die Tiere vorher gehungert hatten.

Es fragt sich nur, wie dieser Zusammenhang zu erklären ist. Daß die verschieden lange Dauer der vorangehenden Hungerperiode auch eine entsprechend verschiedene Abnahme des Körperbestandes zur Folge hat, ist selbstverständlich. In nachstehender Tabelle VIII habe ich einerseits die Veränderung der Wärmeproduktion im Verlaufe der Milchtage im Vergleich zum Hungerumsatz, andererseits die Abnahme des Körpergewichtes vom dritten (resp. in Versuchsreihe I vom zweiten) Hungertag bis zum ersten Milchtage berechnet.

Tabelle VIII.

Ver- suchs- reihe	Änderung der Wärme- produktion im Verlaufe der Milchtage o/o	Änderung des Körper- gewichtes bis zum Beginn der Milch-Versuche o/o
II	-10, -7	-13
III	-18, -15, -21, -23	-16
IV	-9, -11, -27, -25	-10
I	+25	-7
V	+1, +2, -5, -4	-5
VI	+11, +21, +6, +3, +5, -11	-7

Aus Tabelle VIII ist ohne weiteres ersichtlich, daß gerade in den Versuchsreihen, in denen die Tiere mit relativ stärker reduziertem Körpergewicht in die Periode der Milchversuche

eintraten, eine Abnahme der Wärmeproduktion erfolgt war. Nun sagt aber dieser Befund über die Ursache der abnehmenden Wärmeproduktion nichts weiter aus, als was wir schon oben gesehen haben. Denn mit der längeren Dauer der vorangehenden Hungerperiode ist eine stärkere Abnahme des Körpergewichtes in kausalem Zusammenhange.

Eine weitere Aufklärung dürfen wir erwarten, wenn wir die Einbuße am Fett- und Eiweißbestand gesondert betrachten. Von vornherein ist es wahrscheinlicher, daß letzterer, der ja den Vorrat an lebendem Protoplasma darstellt, von maßgebenderem Einfluß auf den Energieumsatz ist als der Vorrat an Fett, das wir ja bloß als Zelleinschluß zu betrachten pflegen.

In nachfolgender Tabelle IX habe ich in jeder Versuchsreihe den Eiweißverlust an beiden Hungertagen berechnet, wobei zu bemerken ist, daß Versuchsreihen I und II hier außer Betracht bleiben müssen, da in denselben der N-Verkehr überhaupt nicht bestimmt wurde, der C-Verkehr aber vielfach Unsicherheiten aufweist, wie dies in Tabelle II vermerkt ist, daher eine Berechnung des Eiweiß- und Fettumsatzes nicht möglich war.

Tabelle IX.

An beiden der MilCHFütterung vorangehenden Hungerversuchen wird					
Ver- suchs- reihe	Fett zersetzt pro 1 qm g	Eiweiß zersetzt pro 1 qm g	Ver- suchs- reihe	Fett zersetzt pro 1 qm g	Eiweiß zersetzt pro 1 qm g
III	105,6 83,6	33,6 55,3	V	64,2 59,1	17,5 22,1
IV	90,0 83,3	49,6 49,0	VI	92,5 93,1	32,4 35,2
Mittelwerte: 90,5		46,9		77,2	26,8

Aus Tabelle IX ist ersichtlich, daß in den Versuchen mit der allmählichen deutlichen Verringerung der Wärmeproduktion der tägliche, auf 1 qm bezogene Verlust am Fettbestand während der vorangehenden Hungerperiode um etwa 17%, der Eiweißverlust jedoch um 75% größer war als in den Versuchen, wo die Wärmeproduktion an den nachfolgenden Milchtagen entweder wenig verringert oder gar gesteigert war.

Der Grund für die Verringerung der Wärmeproduktion muß also tatsächlich, wie wir a priori angenommen hatten,

nicht im Fett-, sondern im Eiweißverlust zu suchen sein. Und zwar werden wir zu untersuchen haben:

1. Wie der Eiweißbestand des Tieres bei dem Beginn der protrahierten Unterernährung beschaffen ist,

2. wie sich der Eiweißbestand im Verlaufe der Unterernährung verändert.

Ad 1. Wollen wir zunächst die absoluten (nicht auf 1 qm berechneten) Werte für den Eiweißverlust für die ganze Dauer der Hungerperiode summieren und mit dem Eiweißbestand der Tiere zum Beginn des Hungerns vergleichen. Leider stehen mir in allen 4 Versuchsreihen die Werte für den Eiweißverlust an den beiden ersten Hungertagen nicht zur Verfügung; ich mußte zu dieser Berechnung notgedrungen in jeder Versuchsreihe den Wert vom 3. Tage einsetzen und glaube dadurch keinen allzu großen Fehler begangen zu haben. Desgleichen fehlen mir auch die Daten für das Körpergewicht an den ersten Hungertagen. Hierfür habe ich Werte eingesetzt, die aus der Gewichtsabnahme vom 3. bis 4., resp. vom 3. bis 5. Hungertag in jeder Versuchsreihe durch Extrapolation erhalten werden konnten. Von diesem Anfangsgewicht ausgehend berechnete ich den Eiweißvorrat des Tieres zu rund 15% deselben. Aus dieser Berechnung ergab sich folgendes:

Tabelle X.

Versuchsreihe	Eiweißvorrat am Beginn des 1. Hungertages g	Eiweißverlust bis zum Beginn der Milchversuche		Eiweiß- vorrat am Beginn der Milch- versuche g	Eiweißverlust im Verlaufe der Milchversuche	
		g	in % des Eiweiß- vorrats zu Beginn des 1. Hungertages		g	in % des Eiweiß- vorrats zu Beginn der Milchversuche
III.	547 (Anfangs- gewicht = 3674)	64,3	11,9	483	73,8	15,3
IV.	557 (Anfangs- gewicht = 3712)	76,0	13,6	481	19,8	4,1
V.	934 (Anfangs- gewicht = 6228)	27,5	2,9	907	4,5	0,5
VI.	1022 (Anfangs- gewicht = 6814)	53,7	5,2	968	7,5	0,8

Der Zusammenhang zwischen dem Eiweißbestand zu Beginn der Milchfütterung und dem Verhalten der Wärmeproduktion während derselben ist hier außerordentlich klar; denn Versuchsreihe III und IV mit dem stark reduzierten Eiweißvorrat sind gerade diejenigen, in denen eine ansehnliche Verringerung der Wärmeproduktion statthat; Versuchsreihe V und VI mit dem viel geringeren Eiweißverlust diejenigen, in denen die Wärmeproduktion kaum verringert oder gar gesteigert ist.

Es könnte hier auffallen, daß es sich in den Versuchsreihen III und IV mit der starken Eiweißzersetzung und der abnehmenden Wärmeproduktion um kleinere, ca. 3 kg schwere Hunde handelte, in Versuchsreihen V und VI hingegen mit der geringen Eiweißzersetzung und nicht verringerten Wärmeproduktion um größere, ca. 6 kg schwere Tiere. Es könnte dies verallgemeinert und hieraus gefolgert werden, daß kleinere Tiere, wie auch C. Voit¹⁾ bereits behauptet hatte, einen relativ größeren Eiweißverbrauch an den ersten Hungertagen haben. Abgesehen davon, daß ich diese Regel an der Hand von zahlreichen Hungerversuchen in der vorangehenden Arbeit²⁾ nicht bestätigen konnte, würde dies an den oben gefundenen Tatsachen nichts ändern; denn hier suchen wir zunächst nicht nach den Ursachen des einmal stärkeren, einmal geringeren Eiweißverbrauchs, sondern nach dessen Zusammenhang mit dem Verhalten der Wärmeproduktion.

2. Auf S. 37 wurde als zweiter zu behandelnder Punkt angeführt, wie der Eiweißbestand sich im Verlaufe der protrahierten Unterernährung verhält.

Ein Blick auf die Werte für das zersetzte Körpereiwweiß in der vorangehenden Tabelle VII läßt uns klar erkennen, daß in Versuchsreihen III und IV, die die ansehnliche Abnahme der Wärmeproduktion aufweisen, die Zersetzung des Körpereiwweißes auch weiterhin bedeutend stärker ist, als in Versuchsreihen V und VI. Wenn wir außerdem noch die auf S. 37 ausgeführte Berechnung des Eiweißbestandes auf die weitere Dauer der Unterernährung ausdehnen (Tabelle X), ergibt sich, daß die fortschreitende Abnahme der Wärmeproduktion

¹⁾ C. Voit, in Herrmanns Handbuch 6, 76, 1881.

²⁾ l. c.

nicht nur durch die initialen, in der vorausgegangenen Hungerperiode erlittenen Einbußen am Eiweißbestand, sondern auch in den weiter fortschreitenden Eiweißverlusten begründet ist.

Haben wir auf diese Weise festgestellt, daß erhöhter Zerfall von Körpereiweiß mit einer verringerten Wärmeproduktion einhergeht, bliebe als wichtige Frage noch zu beantworten, wie diese Verringerung zustande kommt. Es wäre einerseits denkbar, daß in denjenigen Fällen, wo die Einbuße an Eiweißbestand so bedeutend ist, wie in Versuchsreihen III und IV, nicht bloß der Erhaltungsumsatz eingeschränkt ist, sondern auch die spezifisch dynamische Wirkung der eingeführten Milch verringert ist oder gänzlich fehlt. Andererseits ist es aber auch möglich, daß in den ersten 5 bis 6 Stunden, die der Nahrungsaufnahme folgen, eine Steigerung des Energieumsatzes wohl eintritt, jedoch der Umsatz des Tieres in der zweiten längeren Periode des Versuchs so stark reduziert ist, daß im Endergebnis des 20 bis 22 Stunden dauernden Versuchs jene Steigerung nicht nur nicht hervortritt, sondern durch die starke Herabsetzung des Energieumsatzes in der zweiten Periode sogar überkompensiert wird.

Um diese Frage zu beantworten, habe ich — wie bereits eingangs erwähnt war — an den Milchtagen die Kohlensäureproduktion in allen Versuchsreihen, die Wärmeproduktion aber in Versuchsreihen I, V und VI in zwei Perioden getrennt bestimmt; Periode I folgte unmittelbar der Milchaufnahme und dauerte 5 bis 8 Stunden, Periode II bis zum Schluß des Versuchs.

In nachfolgender Tabelle XI sind alle durch die periodenweisen Bestimmungen erhaltenen Werte zusammengestellt; in Tabelle XII dieselben auf 1 Stunde und 1 qm Körperoberfläche berechnet.

Von Versuchsreihe I, in der einerseits unverhältnismäßig viel Milch gegeben wurde, andererseits das Tier einen Teil derselben wieder erbrochen hat, und schließlich den beiden Hungertagen bloß ein Milchtag folgte, will ich hier gänzlich absehen, und zunächst die Resultate von Versuchsreihen V und VI besprechen.

In beiden Versuchsreihen ist der Erhaltungsumsatz, d. h. der Energieverbrauch in der zweiten Versuchsperiode, nur wenig

Tabelle XI.

Versuchsreihe	Versuchsnummer	Wärmeproduktion	CO ₂ -Produktion in Periode				Versuchsreihe	Versuchsnummer	Wärmeproduktion	CO ₂ -Produktion in Periode							
			I		II					I		II					
			Dauer	Gramm	Dauer	Gramm				Dauer	Gramm	Dauer	Gramm				
			Std.	Gramm	Std.	Gramm				Std.	Gramm	Std.	Gramm				
II ¹⁾	4	Keine getrennte Perioden	Keine getr. Perioden				I	1	Keine getr. Perioden								
	5		" " " "					2	" " " "								
	6		9,15	31,24	14,27	42,11		3	5,20	48,8	16,55	173,7					
	7		8,25	35,01	14,92	48,45						6,25	30,73	15,75	41,45		
III	8	Keine getrennte Perioden	Keine getr. Perioden				V	20	Keine getr. Perioden								
	9		" " " "					21	" " " "								
	10		9,22	31,24	12,42	35,37		22	5,00	59,9	13,50	133,1					
	11		8,76	28,63	14,28	36,67		23	4,25	53,6	14,25	138,1					
	12		9,09	28,57	14,00	33,36		24	4,25	47,8	15,25	144,9					
	13		8,78	24,32	13,37	32,93		25	4,50	56,0	14,50	137,8					
IV	14	Keine getrennte Perioden	Keine getr. Perioden				VI	26	4,50	69,3	15,50	267,1					
	15		" " " "					27	5,00	70,5	14,00	221,7					
	16		6,28	20,42	13,13	38,13		28	6,00	117,3	13,00	207,9					
	17		8,08	27,34	14,58	?		29	5,25	114,6	12,75	218,5					
	18		6,83	21,32	14,78	35,97		30	5,50	86,4	13,25	208,6					
	19		9,19	29,00	13,66	27,78		31	5,00	78,7	14,00	210,3					
								32	5,50	91,5	13,25	205,4					
								33	5,00	74,3	14,00	180,8					
																14,00	61,43

vom Energieumsatz an beiden Hungertagen verschieden. In Versuchsreihe V beträgt der Hungerumsatz 28,1, der Erhaltungsumsatz an den Milchtagen durchschnittlich 26,6 kg/Cal., also um 5% weniger; in Versuchsreihe VI beträgt der Hungerbedarf 40,4, der Erhaltungsumsatz im Durchschnitt der Milchtage (mit Ausnahme des letzten Versuchs) 43,3 Calorien, also um etwa 7% mehr. Diese Unterschiede sind etwas größer als die zulässigen und wahrscheinlichen Versuchsfehler.

In der unmittelbar dem Einführen der Milch folgenden Periode ist in beiden Versuchsreihen an den meisten Milchtagen eine ansehnliche Steigerung der Wärmeproduktion wahrzunehmen (die allerdings an dem Endergebnis des ganzen Versuchs nur einen geringen Ausdruck findet). Diese Steigerung ist zweifellos als spezifisch dynamische Wirkung der eingeführten Nahrung anzusehen¹⁾.

¹⁾ In den Versuchen 30 und 31 der Versuchsreihe VI ist laut Tabelle XII die Wärmeproduktion in beiden Perioden gleich. Es scheint also ihre Steigerung nach dem Einbringen der Milch zu fehlen. Der

Tabelle XII.

Versuchsreihe	Versuchsnummer	Pro 1 Stunde und 1 qm wird produziert:			Versuchsreihe	Versuchsnummer	Pro 1 Stunde und 1 qm wird produziert:				
		Wärme wdh- rend der gesamten Ver- suchsdauer kg/Cal.	CO ₂ in Periode				Wärme in Periode		Wärme in Periode		
			I g	II g			I kg/Cal.	II kg/Cal.	I g	II g	
II ¹⁾	4	37,8	12,57		I	1	37,7		8,65		
	5	40,4	15,98			2	39,4		10,99		
	6	35,4	14,55	12,58		3	38,1	43,0	20,14	10,77	
	7	36,6	18,53	14,21							
III	8	44,2	14,14		V	20	30,0		8,51		
	9	41,4	12,85			21	26,2		8,38		
	10	35,2	14,96	12,57		22	33,4	27,5	12,26	8,95	
	11	36,2	14,60	11,47		23	34,8	26,7	11,49	8,57	
	12	33,7	14,41	10,92		24	31,1	26,2	10,77	8,29	
	13	33,0	13,46	11,95		25	34,1	26,0	11,52	9,04	
IV	14	47,2	13,18		VI	26	39,5	44,2	13,12	13,00	
	15	41,9	12,32			27	36,7	41,2	12,13	13,12	
	16	40,5	13,48	12,03		28	52,7	43,1	21,00	13,36	
	17	39,8	14,25	?		29	59,1	46,4	19,80	13,82	
	18	32,2	13,29	10,35		30	43,0	43,1	16,67	13,26	
	19	33,2	13,58	8,76		31	43,2	41,3	17,18	12,89	
					32	45,7	47,5	13,56	11,97		
					33	40,6	35,3	14,97	11,98		

Grund hierfür liegt in dem Umstande, daß gerade in diesem Versuche besonders kalte Milch (0° resp. 3°) gereicht wurde. Die Erwärmung von 300 ccm Flüssigkeit auf die Temperatur des Tierkörpers (etwa 38°) erheischt eine Wärmemenge von etwa 11 kg/Cal., die produziert werden müssen, ohne in den Ausgaben des Tieres zu erscheinen. Wohl ist in dem auf 24 Stunden berechneten Wert für Wärmeproduktion dieser Wärmemenge durch die Korrektur Rechnung getragen, die im Stab 7 der Tabelle IV der Veränderung der Körpertemperatur entspricht; in Tabelle XII konnte aber diese Korrektur nicht angebracht werden, da die Temperatur des Tieres zwischen beiden Perioden nicht gemessen werden konnte und es sich demnach nicht sagen läßt, wann dieselbe wieder den Stand erreicht hat, der am Ende des Versuchs abgelesen wurde. Jedenfalls dürfte dies am Ende der ersten Periode oder kurz nachher bereits geschehen sein. Wenn wir daher wenigstens einen Teil der obigen 11 kg/Cal. zu der in der ersten Periode tatsächlich ausgegebenen und gemessenen Wärmemenge hinzuaddieren, ist der erhöhte Energieumsatz in der ersten Periode auch für die Versuche 30 und 31 erwiesen. Daß dies in der Tat der Fall ist, erhellt auch aus dem Verhalten der Kohlensäureproduktion in diesen Versuchen, worüber S. 44 ausführlich berichtet werden soll.

¹⁾ Alle Werte für die CO₂ in dieser Versuchsreihe sind auf etwa 10% unsicher; doch betrifft derselbe Fehler beide Perioden gleichmäßig, daher sind die Werte wohl miteinander zu vergleichen.

Nachdem auf diese Weise sichergestellt ist, daß in diesen Versuchsreihen der Erhaltungsumsatz im Laufe der protrahierten Unterernährung sich mit Ausnahme der letzten Versuchstage nicht wesentlich ändert und eine deutliche spezifisch dynamische Wirkung der eingeführten Milch nachweisbar ist, war es von großem Interesse zu erfahren, wie sich in den Versuchsreihen mit der starken Veränderung des Eiweißbestandes

- a) der Erhaltungsumsatz an den Milchtagen verhält,
- b) ob eine Steigerung des Energieumsatzes in der dem Einführen der Milch unmittelbar folgenden Periode stattfindet.

Nun war, wie bereits erwähnt, in diesen zeitlich weiter zurückstehenden Versuchsreihen eine periodenweise Bestimmung wohl der Kohlensäure, aber nicht auch der Wärmeproduktion durchgeführt. Es fragt sich, inwieweit wir aus dem Verhalten der Kohlensäureproduktion auf die Wärmeproduktion schließen können.

a) Auf Grund der soeben besprochenen Befunde über den Erhaltungsumsatz an den Milchtagen in den Versuchsreihen V und VI können wir ohne weiteres auch für Versuchsreihe II, III und IV annehmen, daß die Verbrennung der Milch vor dem Eintritt in die zweite Versuchsperiode bereits so gut wie abgeschlossen ist, die Verbrennungen in Periode II demnach nicht anders als im Hungertiere ablaufen. Im Hungertiere sind aber Kohlensäureproduktion und Energieumsatz miteinander direkt zu vergleichen.

Tabelle XIII.

Versuchsreihe	Art des Versuchs	CO ₂ -Produktion in 1 Std. und pro 1 qm		
		g	Veränderung	
			g	%
II	2 Hungertage	14,27	—	—
	Milchtag (Periode II)	12,58	— 1,69	— 12
	" (" II)	14,21	— 0,06	± 0
III	Hungertag	13,50	—	—
	Milchtag (Periode II)	12,57	— 0,93	— 7
	" (" II)	11,47	— 2,03	— 15
	" (" II)	10,92	— 2,58	— 19
	" (" II)	11,95	— 1,55	— 11
IV	Hungertag	12,75	—	—
	Milchtag (Periode II)	12,03	— 0,72	— 6
	" (" II)	?	?	?
	" (" II)	10,35	— 2,40	— 19
	" (" II)	8,76	— 3,99	— 31

In vorstehender Tabelle XIII habe ich die Mittelwerte für beide Hungertage berechnet und mit diesen die Werte für die Kohlensäureproduktion in der Periode II der Milchtage verglichen.

Aus Tabelle XIII ist klar zu ersehen, daß bei Tieren, deren Wärmeproduktion parallel ihren fortschreitenden Eiweißverlust eine Abnahme zeigt, auch der Erhaltungsumsatz eine teilweise sehr erhebliche Einschränkung erfährt.

b) Schwieriger ist die Frage über das Verhalten der Wärmeproduktion unmittelbar nach der Milcheinführung zu beantworten; denn bekanntlich ist der calorische Wert der abgegebenen Kohlensäure sehr verschieden, je nachdem Kohlenhydrate, Fett oder Eiweiß verbrennen, und zwar in weit höherem Grade, als dies für den verbrauchten Sauerstoff der Fall ist, so daß man aus der Veränderung der Kohlensäureproduktion nicht ohne weiteres auf die der Wärmeproduktion schließen kann. Doch läßt es sich leicht berechnen¹⁾, daß, wenn nach dem Einführen von Milch die CO_2 -Produktion gesteigert ist und diese Steigerung mehr als 14% beträgt, man mit Sicherheit auf eine Steigerung der Wärmeproduktion schließen kann.

¹⁾ Setzen wir den Fall, daß 3,3 g Fett, 3,3 g Eiweiß und 4,5 g Zucker in 100 ccm Milch von durchschnittlicher Zusammensetzung eingeführt wurden und verbrennen, so entstehen hierbei

aus Fett	$3,3 \times 1427 = 4709,$
„ Eiweiß	$3,3 \times 782 = 2580,$
„ Zucker	$4,5 \times 829 = 3730,$
zusammen	<u>11019 ccm CO_2.</u>

Falls nun die genannten, mit der Milch eingeführten Substanzen quasi auf einmal in ihrer ganzen Menge an Stelle isodynamer Mengen von Körpersubstanzen treten, so muß auch bei unverändertem Energieumsatz eine Vermehrung der Kohlensäureproduktion stattfinden. Es beträgt nämlich der physiologische Nutzeffekt der genannten Milchbestandteile:

$3,3 \times 9,4 = 31,0,$	
$3,3 \times 4,1 = 13,5,$	
$4,5 \times 4,1 = 18,4,$	
zusammen . .	62,9 kg/Cal.

Wenn diese 62,9 Cal. aus der Verbrennung von Körpersubstanzen entstehen, wobei Eiweiß und Fett (wie für gewöhnlich angenommen werden kann) bezüglich ihres Energiegehaltes sich wie 15:85 verhalten,

In nachfolgender Tabelle XIV habe ich für Versuchsreihen II bis VI den prozentischen Unterschied der CO_2 -Produktion in Periode I und II innerhalb jeder Versuchsreihe berechnet; für Versuchsreihe V und VI dasselbe, auch bezüglich der Wärmeproduktion.

Tabelle XIV.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	An den Milchtagen wird in Periode II mehr CO_2 produziert als in Periode I %	Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	An den Milchtagen wird in Periode II mehr produziert als in Periode I	
					Wärme %	CO_2 %
II	6	16	V	22	21	37
	7	30		23	30	34
III	10	19		24	19	30
	11	25		25	31	27
	12	32	VI	28	22	57
	13	13		29	27	43
IV	16	12		30	0 ¹⁾	26
	17	?		31	0 ¹⁾	41
	18	28		32	8	13
	19	55		33	15	25

so ergibt die Berechnung, daß 4,2 Cal. aus der Verbrennung von Eiweiß und 58,7 Cal. aus der von Fett hervorgegangen sind. In diesem Falle wären verbrannt:

$$4,2 : 4,1 = 1,00 \text{ g Eiweiß}$$

und

$$58,7 : 9,4 = 6,24 \text{ g Fett,}$$

und dabei entstanden:

$$\text{aus Eiweiß} \dots\dots 1 \times 782 = 782,$$

$$\text{" Fett} \dots\dots 6,24 \times 1427 = 8904,$$

$$\text{zusammen} \dots\dots 9686 \text{ ccm CO}_2.$$

Bei der Verbrennung der genannten Milchbestandteile müssen demnach bei isodynamer Vertretung von Körpersubstanz 11019 — 9686 = 1861 ccm Kohlensäure mehr produziert worden sein, was einer Zunahme von 14% entspricht.

Nun ist dieser Berechnung die Annahme untergelegt, daß die genannten Milchbestandteile sofort in voller Menge für die Körpersubstanzen eintreten; ein Fall, der ja wohl als ausgeschlossen gelten kann. Daher eine Zunahme von 14% der Kohlensäureproduktion bei unverändertem Energieumsatz das Maximum darstellt, das bei unveränderter Wärmeproduktion noch möglich ist, oder umgekehrt; eine Zunahme der Kohlensäureproduktion um mehr als 14% bedeutet in unseren Milchversuchen unter allen Umständen eine Steigerung der Wärmeproduktion.

¹⁾ S. Anmerkung auf S. 40.

Wie aus der Tabelle XIV ersichtlich ist, beträgt in Versuchsreihen V und VI der Unterschied in der CO_2 -Produktion in Periode I und II wesentlich mehr als 14⁰/₀; dementsprechend zeigt sich auch in der direkt bestimmten Wärmeproduktion ein ansehnlicher Unterschied.

In Versuchsreihen II, III und IV ist das Verhalten der CO_2 -Produktion ein wechselndes; in vier von neun Versuchen beträgt ihre Steigerung nach dem Einführen der Milch nicht mehr als ca. 14⁰/₀, läßt daher nicht auf einen vermehrten Energieumsatz schließen. In anderen fünf Versuchen ist aber die CO_2 -Produktion so stark gesteigert, daß auch die Steigerung des Energieumsatzes sichergestellt ist.

Die auf Seite 42 gestellten Fragen können wir demnach dahin beantworten, daß im Falle starken, fortschreitenden Eiweißverlustes

a) an den Milchtagen ein mehr oder minder starker Abfall im Erhaltungsumsatz eintritt,

b) daß die eingeführte Milch zwar eine vorübergehende Steigerung der Wärmeproduktion (spezifisch dynamische Wirkung) ausüben kann, jedoch diese Wirkung an diesen Tieren augenscheinlich geringer ist, als an Tieren mit wenig geschmälertem Eiweißbestand.

In der bereits öfter zitierten vorangehenden Arbeit habe ich gezeigt, daß der Energieumsatz verschiedener hungernder Hunde an den ersten Hungertagen, auch wenn er auf die Einheit der Körperoberfläche reduziert war, ansehnliche Unterschiede aufweist; und daß die höheren Werte für den Energieumsatz an denjenigen Tieren erhalten wurden, die mehr Eiweiß als andere zersetzen.

Wie reimt sich zu dieser Tatsache der Befund, der in der vorliegenden Arbeit erhoben wurde, daß nämlich der Energieumsatz im Verlaufe einer protrahierten Unterernährung gerade an solchen Tieren abnimmt, die eine stärkere Eiweißzersetzung aufweisen?

Die bereits eingangs zitierte Erklärung früherer Autoren, der ich in den obenstehenden Erörterungen beipflichten mußte, sagt so viel aus, daß der Energieumsatz mit der Verringerung des Eiweißbestandes abnehme.

Es ist jedoch fraglich, ob diese Erklärung eine erschöpfende ist; denn gerade in der vorangehenden Arbeit habe ich gezeigt, daß erhöhter Eiweißverbrauch auch eine erhöhte Fettverbrennung und so aus doppelten Gründen eine Steigerung des Energieumsatzes herbeiführe. Es könnte ja sein, daß der Energieumsatz, wenn man ihn auf den jeweiligen Eiweißbestand reduziert, auch in solchen Fällen eine Erhöhung aufweist, wo er, auf die Einheit der Körperoberfläche berechnet, eine Verringerung zeigt. Da aber in der von mir getroffenen Versuchsanordnung der Eiweißbestand nicht, wie etwa in E. Voits Versuchen, tatsächlich bestimmt, sondern nur annähernd geschätzt wurde, kann ich mich diesbezüglich nicht äußern.

Es könnte aber auch sein, daß die Vorgänge im Verlaufe einer chronischen Unterernährung von denjenigen der ersten Hungertage verschieden sind. Ohne auf die noch immer strittige Frage des sogenannten zirkulierenden und Organeiweißes reflektieren zu wollen, will ich nur die Möglichkeit andeuten, daß im protrahierten Hunger oder während der chronischen Unterernährung das Eiweiß anderer Organe oder aber andere Eiweißarten zur Verbrennung gelangen, als an den ersten Hungertagen; und daß diese resp. ihre Abbauprodukte von verschiedener Wirkung auf den Stoff- und Energieverbrauch sind. Für die Möglichkeit, daß sich verschiedene Eiweißarten bezüglich ihres weiteren Schicksals im Tierkörper voneinander unterscheiden können, zeugt doch so mancher Befund neuesten Ursprunges.

Die Ergebnisse der oben beschriebenen Versuche lassen sich kurz in folgendem zusammenfassen.

1. Wird ein Hund nach einer kürzeren Hungerperiode weiterhin mit einer täglichen Menge von Milch ernährt, die seinen Energiebedarf nicht deckt, so ist sein Tagesumsatz an chemischer Energie während dieser chronischen Unterernährung entweder ein wenig gesteigert oder aber er zeigt eine allmähliche ansehnliche Abnahme.

2. Der Energieumsatz zeigt eine geringe Zunahme an solchen Tieren, die in der vorangehenden Hungerperiode sowie im Verlaufe der Unterernährung einen relativ geringen Eiweißverlust aufwiesen.

3. Die Herabsetzung des Energieumsatzes tritt an solchen Tieren ein, deren Eiweißverlust ein relativ bedeutender war.

An solchen Tieren ist der Erhaltungsumsatz an den Milchtagen ansehnlich herabgesetzt, und zwar stärker, als der Energieumsatz im Verlaufe des ganzen Milchfütterungstages.

4. Die spezifisch dynamische Wirkung der eingeführten Milch ist auch an solchen Tieren nachweisbar, die einen stärkeren Eiweißverlust erlitten haben, deren Erhaltungsumsatz daher ansehnlich verringert ist. Bei der starken Verringerung des Erhaltungsumsatzes ist es begreiflich, daß die Steigerung des Energieumsatzes, die durch die Milcheinfuhr verursacht wird, in der 24stündigen Wärmeproduktion nicht zum Ausdruck kommen kann.

Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes.

III. Mitteilung.

Der Zuckerverbrauch des überlebenden Darmes von pankreasdiabetischen Hunden.

Von

F. Verzár und J. Krauß.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiologische Chemie der Universität Budapest. [Direktor: F. Tangl.])

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Es ist bekannt, daß isolierte überlebende Organe aus einer Nährlösung Traubenzucker verbrauchen. Die Frage, ob im Pankreasdiabetes die Fähigkeit der Zellen, Zucker zu verwerten, verschwindet, legte es nahe, zu untersuchen, ob der Zuckerverbrauch überlebender Organe von pankreasdiabetischen Tieren vermindert ist. Diesbezügliche Untersuchungen wurden bisher am Herz von Warmblütern ausgeführt.

Nachdem Hamburger¹⁾, Knowlton und Starling²⁾, und Maclean und Smedley³⁾ behauptet hatten, daß das Herz pankreasdiabetischer Tiere Zucker zu verbrauchen nicht imstande ist, hat in jüngster Zeit Starling seine frühere Ansicht geändert und in Gemeinschaft mit Patterson⁴⁾ gerade im Gegenteil gezeigt, daß auch die pankreasdiabetischen Herzen Zucker verbrauchen. Seine früheren negativen Versuche und damit auch die Versuche der anderen Autoren erklärt er damit, daß die Herzen sehr reich an Glykogen gewesen seien. Tatsächlich haben in Starlings Laboratorium Cruickshank und

¹⁾ Magy. Orv. Arch. 1912. (Ungarisch).

²⁾ Journ. of Physiol 45, 119, 1912.

³⁾ Ebenda 45, 462, 470, 1912.

⁴⁾ Ebenda 47, 137, 1913.

Patterson¹⁾ einen sehr bedeutenden Glykogengehalt in den diabetischen Herzen nachgewiesen, der manchmal sogar größer war als der von normalen Herzen. Steigert man die Arbeit des Herzens durch Adrenalin, so verschwindet das Glykogen, und solche glykogenfreien Herzen verbrauchen dann auch den ihnen gebotenen Zucker. Das pankreasdiabetische Herz soll also die Fähigkeit besitzen, zuerst sein eigenes Glykogen und, wenn dieses verbraucht ist, auch den Zucker der Nährlösung zu verbrauchen. Auch die früheren Angaben, daß Pankreasextrakte und Blut von normalen Tieren die Fähigkeit, Zucker zu verbrauchen, dem pankreasdiabetischen Herz wieder zurückgeben, sollen nach diesen neueren Angaben nur darauf beruhen, daß dadurch die Herzarbeit verbessert, das Glykogen schneller verbraucht und der Zucker der Nährlösung deshalb früher angegriffen worden sei.

Dieser Gegensatz zwischen den früheren und den neueren Untersuchungen, ferner die Tatsache, daß das Herz in bezug auf seinen Glykogengehalt eine Ausnahmestellung unter den Organen des pankreasdiabetischen Tieres einnimmt und endlich die verschiedenen Möglichkeiten, die den Zuckerverbrauch beeinflussen können (Salzgehalt der Lösung, H-Ionenkonzentration), ließen den Wunsch berechtigt erscheinen, diese Frage auch noch an einem anderen Organe zu untersuchen. Als solches wählten wir den Darm.

Aus den Untersuchungen von Neukirch und Rona²⁾ wissen wir, daß isolierte, in zuckerhaltiger und sauerstoffdurchströmter Tyrode-Lösung gehaltene Darmstücke einen recht bedeutenden Zuckerverbrauch haben. Wir untersuchten nun, ob die Därme von pankreasdiabetischen Tieren diese Fähigkeit verlieren.

Leider konnten zu unseren Versuchen nicht, wie in jenen von Neukirch und Rona, Kaninchen benutzt werden, denn die Exstirpation des Pankreas ist bei diesen Tieren so gut wie unmöglich. Wir haben deshalb das klassische Versuchstier des Pankreasdiabetes, den Hund, benutzt. Die Darmbewegung ist bei diesem lange nicht so regelmäßig wie beim Kaninchen,

¹⁾ Journ. of Physiol. 47, 381, 1913.

²⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 144, 555, 1912; 146, 371, 1912; 148, 273, 1912.

und deshalb ist auch die Wirkung von Zucker auf dieselbe nicht so leicht zu untersuchen wie bei jenem.

Da über den Zuckerverbrauch von normalen Hundedärmen bisher — soweit uns bekannt — noch keine Angaben vorliegen, so mußten wir zuerst eine Reihe von „Normal-Versuchen“ machen. Wir hielten uns in jeder Beziehung streng an die Versuchsanordnung von Neukirch und Rona.

Wir benutzten die auch von ihnen gebrauchte Tyrode-Lösung (s. ihre I. Mitt. S. 556), mit einem Zusatz von ca. 1 ‰ Dextrose. Das Gewicht der Darmschlingen betrug 20 bis 60 g; sie befanden sich bei 37 bis 38° in 200, 250, 300 ccm der Lösung, durch die beständig reiner O₂ aus einer Bombe perlte. Die Dauer der Versuche betrug 2 bis 4 Stunden. Der Zuckergehalt der Lösung wurde am Anfang und Ende jeder Periode mit Parallelbestimmungen in je 50 ccm nach Bertrand bestimmt. (Enteiweißung mit Ferr. oxyd. dial. nach Michaelis-Rona.) Die Tiere hungerten einige Zeit vor dem Versuch, und die ausgeschnittenen Därme wurden vor dem Versuch mit Tyrode-Lösung ausgespült. — Da während des Versuches die Lösung sich immer etwas einengte, wurde ihr Volumen am Ende des Versuches wieder bestimmt und bei der Berechnung des Zuckerverbrauches die hierdurch bewirkte Änderung der Zuckerkonzentration in Betracht gezogen. Übrigens war diese Einengung sehr konstant, etwa 5 ‰ in 2 Stunden, was bei den gleichmäßigen Versuchsverhältnissen (trockener, gleichmäßiger Sauerstoffstrom und konstante Temperatur des Wasserbades) auch zu erwarten war.

Die Resultate unserer „Normal-Versuche“ sind in Tabelle I zusammengestellt.

Insgesamt sind 14 Versuche an Därmen von 5 Hunden mitgeteilt. Zahlreiche andere Versuche am Beginn unseres Arbeitens verliefen erfolglos, weil wir die Versuchsperiode zu kurz wählten. Während die Kaninchendärme in den Versuchen von Neukirch und Rona in den ersten 2 Stunden regelmäßig viel Zucker verbrauchten, zeigte sich hier oft innerhalb dieser Zeit überhaupt kein Zuckerverbrauch. Erst als wir anfangen, auch noch eine weitere zweistündige Periode zu untersuchen, hatten wir positive Erfolge. Versuche 11 bis 14 sind Beispiele hierfür: in den ersten zwei Stunden gar kein, in der dritten

bis vierten dagegen ein deutlicher Zuckerverbrauch. Man erinnert sich dabei unwillkürlich an die Erklärung, die Starling den negativen Versuchen an glykogenreichen Herzen gibt, und es ist möglich, daß auch hier die Därme deshalb erst später Zucker verbrauchen, weil sie anfangs noch „Reservematerial“ haben.

Tabelle I.
Zuckerverbrauch normaler Därme.

Versuch	Hund	Lösung ccm	Dauer des Versuches Std.	Gewicht des Darmes g	Zucker- konzentration		Zucker- verbrauch		Anmerkungen
					am Anfang ‰	am Ende ‰	des ganzen Darmes mg	pro 1 g und 1 Std. mg	
1	XIII	250	4	31,5	1,14	1,00	35,0	0,40	Gefüttert
2	"	250	4	21,5	1,20	0,97	57,5	0,45	
3	XIV	300	2	27,5	1,30	1,17	39,0	0,70	Hat 2 Tage gehungert (s. Kontrollvers. Nr. 33)
4	"	300	2	23	1,30	1,16	42,0	0,90	do. Nr. 34
5	"	300	4	36	1,30	1,11	58,5	0,40	
6	"	300	4	26	1,30	1,18	37,5	0,35	
7	XV	300	2	39	1,24	1,15	27,0	0,35	do. " 35
8	"	300	2	40	1,24	1,14	30,0	0,38	do. " 36
9	"	250	4	59	1,24	1,05	47,0	0,20	
10	"	250	4	54	1,24	1,04	50,0	0,22	
11	XVI	300	2	58	1,06	1,06	0	0	Hat 1 Tag gehungert
	—	200	weitere 2	—	1,06	0,87	39	0,35	
12	"	300	2	47	1,06	1,06	0	0	
	—	200	weitere 2	—	1,06	0,83	46	0,50	
13	XVII	300	2	37	1,17	1,16	0	0	Hat 5 Tage gehungert
	—	200	weitere 2	—	1,16	0,99	36	0,50	
14	"	300	2	32	1,17	1,16	0	0	
	—	200	weitere 2	—	1,16	0,92	48	0,80	

Dieses Verhalten ist jedoch nicht die Regel, denn ebenso oft finden wir auch schon in den ersten Stunden einen Zuckerverbrauch, wie z. B. in Versuchen 3, 4, 7, 8. — In Versuchen 3 bis 6 und 7 bis 10 wurden je zwei Darmabschnitte desselben Hundes in zweistündigen Perioden und je zwei in vierstündigen Perioden untersucht. Der aus den vierstündigen Perioden pro Gramm und Stunde berechnete Zuckerverbrauch ist viel geringer als der aus den zweistündigen berechnete. Es scheint demnach, daß hier die Därme in der dritten und vierten Stunde weniger Zucker verbraucht haben als in der ersten und zweiten.

Alles in allem zeigt also der Zuckerverbrauch der Därme ein ganz unregelmäßiges Verhalten. Nachdem wir nicht wissen,

wie sich im Laufe der Zeit ihr Zuckerverbrauch ändert, hat also auch eine Berechnung pro Stunde nicht viel Sinn, und nur um irgendeinen Vergleichswert zu haben, ist dennoch in der letzten Rubrik der Verbrauch pro Gramm Darm und Stunde berechnet. Diese Werte schwanken zwischen 0,20 bis 0,90 mg, und die meisten (9 von 14) liegen um 0,40 mg pro Gramm und Stunde. Dieser Verbrauch ist geringer als der von Kaninchen-därmen, jedoch zeigen auch jene sehr schwankende Werte.

Bereits Neukirch und Rona haben sich den Einwand gemacht, daß das Verschwinden des Zuckers auch durch Bakterien zustande kommen könne. Da es sich um Därme handelt, so kann natürlich von einer Sterilität des Präparates keine Rede sein. Jedoch haben sie bereits in Kontrollversuchen, in denen sie den Darminhalt und die abgeschabte Schleimhaut allein in zuckerhaltiger Lösung untersuchten, in der gleichen Zeit und unter den gleichen Bedingungen kein nennenswertes Verschwinden von Zucker gesehen. (S. ihre I. Mitt. S. 562.)

Tabelle II.
Kontrollversuche mit Darminhalt.

Versuch	Hund	Lösung ccm	Dauer des Ver- suches Std.	Objekt	Zuckerkonzentration		Zucker- ver- brauch mg	Anmerkungen
					am Anfang 0/100	am Ende 0/100		
33 {	XIV	300	2	27 1/3 g Darm	1,30	1,17	39	} Kontrollvers. zu Vers. 3
		200	weitere 2	Darminhalt	1,17	1,17	0	
34 {		300	2	23 g Darm	1,30	1,16	42	} " " " 4
		200	weitere 2	Darminhalt	1,16	1,14	4	
35 {	XV	300	2	39 g Darm	1,24	1,15	27	} " " " 7
		200	weitere 2	Darminhalt	1,15	1,16	0	
36 {		300	2	40 g Darm	1,24	1,14	30	} " " " 8
		200	weitere 2	Darminhalt	1,14	1,14	0	
37	XIX	250	4	sehr viel Darminhalt	1,24	1,22	5	" " " 20 ¹⁾
38 {	XXIII	300	2	34 g Darm	1,16	1,16	0	} " " " 28 ¹⁾
		180	weitere 2	Darminhalt	1,16	1,11	10	
39 {		300	2	27 g Darm	1,16	1,16	0	} " " " 29 ¹⁾
		180	weitere 2	Darminhalt	1,16	1,16	0	

Wie aus der Tabelle II hervorgeht, haben auch wir dieselbe Kontrolle wiederholt ausgeführt. Gewöhnlich bestimmten wir zuerst in einer zweistündigen Periode den Zuckerverbrauch eines Darmstückes, dann wurde dieses aufgeschnitten, seine

¹⁾ Siehe Tabelle III.

Schleimhaut in die Flüssigkeit abgeschabt und nun in weiteren zwei Stunden unter denselben Verhältnissen untersucht, ob nun weiter Zucker verschwindet. Tatsächlich waren diese Quantitäten minimal. Nur in Versuch 38 verbraucht der eine Darminhalt in zwei Stunden 10 mg Zucker; gerade in diesem Versuche verbrauchte jedoch der Darm selbst gar keinen. Sonst verhielt sich der Zuckerverbrauch der Därme zu dem des Darminhaltes wie 39:0, oder 43:4, usw. Die etwa vorhandene bakterielle Zuckervergärung trat also selbst in vier Stunden neben dem Zuckerverbrauch der Därme ganz in den Hintergrund.

Tabelle III.
Zuckerverbrauch pankreasdiabetischer Därme.

Versuch	Hund	Tag des Diabetes	Blutzucker- gehalt	Lösung	Dauer des Versuches	Gewicht des Darmes	Zuckerkon- zentration		Zucker- verbrauch		Anmerkungen
							am Anfang	am Ende	des ganzen Darmes	pro 1 g und 1 Std.	
			‰	ccm	Std.	g	‰	‰	mg	mg	
15	XXII	8	0,396	250	2	24	1,16	1,10	15,0	0,31	
16				250	4	22	1,16	1,04	30,0	0,35	
17	XX	10	—	300	2	46	1,35	1,35	0	0	
18				200	weitere 2	—	1,35	1,14	42,0	0,48	
19				250	2	55	1,35	1,35	0	0	
20	XIX	9	—	250	4	51	1,35	1,22	32,0	0,30	
21				300	2	17,5	1,24	1,13	33,8	0,95	S. Kontrollvers. Nr. 37
22				250	3 ¹ / ₂	24	1,24	1,11	33,1	0,40	
23				250	2	25,5	1,24	1,20	10,0	0,20	
24	XXI	5	—	250	2	45	1,26	1,20	13,8	0,15	
25				250	2	51	1,26	1,23	7,5	0,07	
26				250	4	50	1,26	0,97	72,5	0,37	
27				250	4	43	1,26	0,81	112,5	0,65	
28	XXIII	11	—	300	2	34	1,16	1,16	0	0	„ „ „ 38
29				300	2	27	1,16	1,16	0	0	„ „ „ 39
30				200	4	28	1,16	1,08	16	0,23	
31	XXVII	7	0,383	300	2	30	1,36	1,36	0	0	
32				200	weitere 2	—	1,36	0,86	101	1,70	
				300	4	29	1,36	1,02	102	0,87	

Wir gehen nun auf die Versuche am Darm von pankreasdiabetischen Hunden über. Dieselben sind in Tabelle III zusammengestellt. Ein Vergleich mit den Versuchen am normalen Darm ergibt, daß er einen ebenso großen Zuckerverbrauch aufweist wie der normale, und die Werte pro Gramm und Stunde sind ebenfalls gerade so schwankend wie bei jenem.

Sie bewegen sich zwischen 0 und 1,70 mg. (Bei den normalen Därmen zwischen 0,20 bis 0,90 mg.) Viele Werte (7 von 17) liegen auch hier um 0,40 mg pro Gramm und Stunde. Das Resultat ist also in jeder Beziehung dem am normalen Darm gewonnenen gleich. Der isolierte Darm pankreasdiabetischer Tiere verbraucht also ebenso viel Traubenzucker wie der von normalen Tieren.

Wir begnügen uns hier vorerst mit der Feststellung dieses Befundes und bemerken nur, daß damit noch durchaus nicht bewiesen ist, daß dieser Verbrauch auch eine Verbrennung des Zuckers bis zu CO_2 bedeutet¹⁾. Manches spricht sogar dagegen. So haben Neukirch und Rona gezeigt, daß der normale Darm auch in der Anoxybiose, wenn durch die Nährlösung Wasserstoff perlt, den Zucker verbraucht (II. Mitt. S. 383)²⁾, ja sogar kaum weniger als in den Versuchen mit Sauerstoffzufuhr. Es erscheint durchaus nicht unmöglich, daß auch dann, wenn Sauerstoff durch die Lösung strömt, doch nur dieser anoxybiotische Teil des Zuckerverbrauches vor sich geht. Ganz das gleiche gilt auch für das Herz: es ist bisher nicht bewiesen, daß sein Zuckerverbrauch eine Verbrennung bis zu CO_2 bedeutet. Neuerdings hat Evans³⁾ beim normalen Herzen die Änderung des R.Q. bei Durchströmung mit zuckerfreier und zuckerhaltiger Lösung untersucht und fand in der Zuckerperiode eine geringe Steigerung. Er bemerkt ausdrücklich, daß diese Steigerung nicht bedeutend ist, so daß man den Gedanken nicht von der Hand weisen könne, daß der Zucker vom isolierten normalen Herz nicht so weit verbrannt werden kann wie im ganzen Organismus. Für das diabetische Herz sind derartige Untersuchungen noch gar nicht ausgeführt. Wie gesagt — das Verschwinden des Zuckers beweist also noch nicht, daß er auch verbrannt wird!

Andererseits wollen wir auch hier wieder hervorheben, daß die Befunde an isolierten Organen durchaus nicht direkt auf den ganzen Körper beziehbar sind. Im Körper des pankreasdiabetischen Tieres können derartige „Hemmungen“ vorhanden

¹⁾ Diesbezügliche Versuche sind im Gange.

²⁾ Jedoch nicht „zerstört“, wie die Autoren sagen! Dafür fehlt der bindende Beweis!

³⁾ Journ. of Physiol. 47, 407, 1914.

sein, die dort den Zuckerverbrauch unmöglich machen, während das isolierte, diesen „Hemmungen“ entrissene Organ einen Zuckerverbrauch haben könnte. (S. Mitteilung V.)

Wir haben viel Mühe darauf verwendet, zu untersuchen, ob Traubenzucker irgendwelche Wirkung auf die Bewegung des Hundedarms hat. Neukirch und Rona haben gezeigt, daß er die Bewegungen des Kaninchendarmes außerordentlich fördert. Im Gegensatz hierzu konnten wir beim Hundedarm niemals eine Verstärkung der Bewegung sehen, nur manchmal zeigte sich eine geringe Tonuszunahme. Der Hundedarm verhält sich also ebenso wie der Katzendarm, bei dem nach Neukirch und Rona (III. Mitt. S. 281) ebenfalls die erregende Wirkung auf die Darmbewegung fehlt, trotzdem der Zucker verbraucht wird. Auch durch Variation der H^+ -Konzentration, des $NaHCO_3$, PO_4 und $CaCl_2$ -Gehaltes gelang es uns nicht, den Zucker wirksam zu machen. Sehr deutlich haben wir dagegen die von Magnus und Cohnheim¹⁾ beschriebene Hemmung der Darmbewegung durch größere Zuckerdosen beobachten können. Wiederholt sahen wir, daß selbst in einer 1‰igen Zuckerlösung der Darm schon zu einer Zeit unbeweglich war, wenn der Kontrolldarm (in reiner Tyrode-Lösung) sich noch stark bewegte.

Die pankreasdiabetischen Därme verhielten sich ebenso wie die normalen. Abgesehen von einer manchmal zu beobachtenden Tonuszunahme wurde auch ihre Bewegung nicht beeinflusst.

¹⁾ Zit. bei Neukirch und Rona, III. Mitt. S. 281.

Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes.

IV. Mitteilung.

Das Verschwinden des Blutzuckers nach Eventeration normaler und pankreasdiabetischer Tiere.

Von

J. Krauß und M. Seiner.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiologische Chemie der Universität Budapest. [Direktor: F. Tangl.]

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Es ist seit langem bekannt, daß wenn man die Leber aus dem Kreislauf ausschaltet, der Blutzucker bedeutend abnimmt. Bock und Hoffmann¹⁾ waren die ersten, die diesen Versuch an Kaninchen ausführten und Tangl und Harley²⁾ machten ihn zuerst am Hund. Die letzteren unterbanden nur die drei Darmarterien. Damit wird dasselbe erreicht, als ob die Leber entfernt würde. Sie heben hervor, daß — wie sie sich selbst überzeugt haben — durch andere Anastomosen nur verschwindend wenig Blut zur Leber gelangt, so daß man also ruhig sagen kann, daß in diesen Versuchen die Leber aus dem Kreislauf geschaltet war. Später hat man an Stelle der Unterbindung der Arterien die Tiere eventeriert, womit man ganz sicher ging, daß kein Blut zur Leber mehr gelangte. Derartige Versuche haben noch Minkowsky, Seegen, Schenk, Kaufmann, Hédon, Kausch, Pavy und Siau³⁾, ferner in neuerer Zeit Macleod⁴⁾, Macleod und Pearce⁵⁾ und Patterson und

¹⁾ Zit. nach Magnus-Levy, Handb. d. Bioch. 4, 314.

²⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 61, 551, 1895.

³⁾ Zit. nach Magnus-Levy, Handb. d. Bioch. 4, 314.

⁴⁾ Americ. Journ. of Physiol. 23, 278, 1909.

⁵⁾ Centralbl. f. Physiol. 26, 1311, 1912; Amer. Journ. of Physiol. 32, 184, 1913 und 33, 378, 1914.

Starling¹⁾ ausgeführt. Das übereinstimmende Resultat aller dieser Versuche war, daß nach Entfernung der Leber aus dem Kreislauf der Blutzucker sehr bedeutend abnimmt und die wahrscheinlichste Erklärung schien zu sein, daß der Fortfall der in der Leber lokalisierten Glukogenie (Zuckerbildung) der Grund ist, warum der durch den fortwährenden Verbrauch durch die Organe beständig abnehmende Zucker nicht mehr ersetzt wird.

Im vorigen Jahre haben nun Macleod und Pearce (l. c.) diesen Versuch an pankreasdiabetischen Tieren wiederholt und sind zu dem Resultat gekommen, daß nach Eventeration bzw. nach Entfernung der Leber aus dem Kreislauf auch bei diesen Tieren der Blutzucker verschwindet. Das haben inzwischen in einem Versuch auch Patterson und Starling (l. c.) bestätigt. Die ersteren Autoren haben daraus gefolgert, daß auch das pankreasdiabetische Tier Zucker verbrennen kann.

Gegen diese Deutung haben jedoch Verzár und v. Fejér²⁾ bemerkt, daß dieselbe so lange nicht begründet ist, bis verschiedenen Kautelen nicht Sorge getragen wird. So haben die Autoren nur den prozentuellen Blutzuckergehalt bestimmt. Eine im Laufe des Versuchs eintretende Hydrämie konnte aber auch ohne Zuckerverbrauch zu einer Verminderung des Blutzuckergehaltes führen. Ferner war Adrenalin angewandt worden, von dem eine spezifische Wirkung auf den Zuckerhaushalt allgemein angenommen wird. All das mußte also umgangen werden.

Weiterhin durften nur Tiere nach dem vierten Tage der Pankreasexstirpation benutzt werden, denn so lange war noch eine geringe Zuckerverbrennung nachweisbar, und endlich war auch die Wirkung der Narkotica nicht eindeutig.

Unter Leitung des Herrn Dozenten Dr. F. Verzár haben wir deshalb den Versuch von Macleod und Pearce unter Einhaltung der erwähnten Vorsichtsmaßregeln wiederholt. Schon nach Beendigung unserer Versuche erschien eine zweite Arbeit der amerikanischen Autoren (l. c.), in der diese, den erwähnten Bedenken von Verzár und v. Fejér Rechnung tragend, über neue Versuche berichten, mit genau denselben Kontrollen, wie wir sie einhielten. Somit ist die vorliegende Arbeit methodisch,

¹⁾ Journ. of Physiol. 47, 137, 1913.

²⁾ Diese Zeitschr. 53, 140, 1913.

ebenso wie den Ergebnissen nach fast vollkommen identisch mit ihrer. Bei der zweifellosen Bedeutung, die dem Versuch von Macleod und Pearce zukommt, schien es uns dennoch nicht überflüssig, auch unsere Versuche mitzuteilen. Nur in einem Punkte weichen unsere Versuche etwas von den ihrigen ab, indem wir nämlich die Benutzung von Adrenalin ganz umgangen haben, während sie dasselbe auch in der neueren Versuchsreihe zur Verbesserung des Blutdruckes benutzten. Insofern können also unsere Versuche ihre ergänzen.

Unsere Versuche sind an normalen und an pankreasdiabetischen Hunden ausgeführt, indem gleichzeitig Blutzucker und Blutkonzentration gemessen wurde. Der Zucker wurde in 10 bis 20 ccm Carotis-Blut nach Bertrand bestimmt. Die Konzentration des Blutes, bzw. das Plasmavolum wurde meist mit dem Hämoglobinometer (Schlesinger), manchmal mit Hämatokrit oder Blutkörperchenzählung (Bürkersche Kammer) gemacht. Von den pankreasdiabetischen Tieren sind nur solche benutzt, bei denen das Pankreas mindestens fünf Tage vorher exstirpiert wurde.

Tabelle I.

Der Blutzuckergehalt normaler Hunde und die Wirkung von Morphin auf denselben.

Versuchs-Nr.	Blutzucker		Körpergewicht kg	Morphin cg
	unnarkotisiert ‰	narkotisiert ‰		
1	0,085	0,270	4,5	20
2	0,087	0,094	6,5	20
3	0,099	0,138	10,0	40
4	0,061	0,070	14,5	58
5	0,070	0,193	9,8	32
6	0,070	0,216	12,0	48
7	0,115	0,277	12,2	50
8	0,103	0,218	8,1	32
9	0,082	0,138	15,0	60
10	0,089	0,186	7,0	28
Mittel	0,086	—	—	—

Besondere Sorge machte uns die Narkose. Wie bekannt, verursacht eine Anzahl von Narkotica Hyperglykämie¹⁾. Da es am einfachsten wäre, Morphin zu verwenden, so haben wir in einer besonderen Reihe von Versuchen die Wirkung desselben auf den Blutzuckergehalt untersucht.

¹⁾ S. u. a. Pawel, diese Zeitschr. 60, 352, 1914.

Wie aus Tabelle I hervorgeht, bewirkt es fast regelmäßig Hyperglykämie, die so stark sein kann wie im Pankreasdiabetes. Wahrscheinlich erklären sich daraus viele (jedoch nicht alle) der ganz ungewöhnlichen, hohen Blutzuckerwerte, die Macleod und Pearce für normale Hunde angeben (bis zu 0,341 $\frac{0}{0}$!), wie auch die hohen normalen Blutzuckerwerte in unseren Versuchen 2, 3 und 4. Diese Morphinwirkung verschwindet nach mehreren Stunden wieder, wie z. B. aus den folgenden zwei Versuchen hervorgeht.

Nr. 6. Hund, 12 kg. Erhält 11^h 50' 48 cg Morphin.

Blutzucker	11 ^h 40'	0,070 $\frac{0}{0}$
	12 ^h 50'	0,216 $\frac{0}{0}$
	2 ^h 05'	0,191 $\frac{0}{0}$
	3 ^h 15'	0,116 $\frac{0}{0}$

Nr. 10. Hund, 7 kg. Erhält 11^h 0' 28 cg Morphin.

Blutzucker	10 ^h 55'	0,090 $\frac{0}{0}$
	12 ^h 05'	0,126 $\frac{0}{0}$
	1 ^h 25'	0,186 $\frac{0}{0}$
	2 ^h 55'	0,160 $\frac{0}{0}$
	7 ^h 35'	0,096 $\frac{0}{0}$

Wir wissen nicht, worin diese Wirkung des Morphins liegt, und deshalb haben wir es bei den weiteren Versuchen gemieden. Wir haben deshalb in Versuch 1 sowie 5 bis 9 nur während der Eventeration mit Äther narkotisiert und dann am nicht narkotisierten Tier gearbeitet. In einigen Versuchen verwandten wir Curare und künstliche Atmung. Curare hat keinen hemmenden Einfluß auf die Zuckerverbrennung. Durch die Eventeration wurde der ganze Magen und Darm, die Milz, das Pankreas entfernt und die Leber aus dem Kreislauf ausgeschlossen. Die Nierengefäße unterbanden wir nicht, doch beobachteten wir an diesen eventerierten Tieren niemals eine Harnsekretion. Die Tiere überlebten die Eventeration nur etwa 1 $\frac{1}{2}$ Stunden, so wie es auch andere Autoren beobachteten. Besonders schlecht vertragen sie eine Blutentnahme. Mit Infusionen sind sie, wie aus Mitteilung V hervorgeht, viel länger am Leben zu erhalten.

In Tabelle II sind vier Versuche an normalen und in Tabelle III fünf Versuche an pankreasdiabetischen Hunden wiedergegeben.

Tabelle II.

Die Wirkung der Eventeration auf den Blutzuckergehalt normaler Hunde.

Versuchs-Nr.	Gewicht g	Zeit	Temperatur ° C	Zucker in 100 cem Blut g	Hämo- globin %	Blutkör- perchen- volumen %	Blutkör- perchen (Millio- nen)	Änderung		Anmerkungen
								des Blut- zucker- gehaltes %	der Blut- konzentration %	
1	9500	3 ^h 00'	38,5	—	—	—	—	—	—	Eventeration beendet.
		3 ^h 10'	38,7	0,073	127,0	—	—	—	—	3,2 cem Curare (1 %), künstliche Atmung.
		4 ^h 30'	38,7	0,012	122,7	—	—	— 83,5	— 3,5	Stirbt bald darauf.
2	9400	10 ^h 55'	38,2	0,294	190,2	—	—	—	—	9 cem Morphin.
		11 ^h 20'	—	—	—	—	—	—	—	Eventeration von 11 ^h 5' bis 11 ^h 20'.
		11 ^h 25'	38,1	0,281	187,2	—	—	—	—	
		11 ^h 55'	38,2	0,232	185,0	—	—	—	—	
		12 ^h 20'	38,2	0,121	187,2	—	—	— 56,9	— 1,5	Stirbt bald darauf.
3	7300	9 ^h 58'	37,0	0,139	—	30,4	—	—	—	7 cem Morphin.
		10 ^h 10'	—	—	—	—	—	—	—	Eventeration von 10 ^h 00' bis 10 ^h 10'.
		10 ^h 15'	—	0,158	—	30,2	—	—	—	
		10 ^h 35'	—	0,147	—	27,6	—	—	—	
		11 ^h 25'	—	0,095	—	27,8	—	— 39,8	— 8,0	
		11 ^h 30'	—	—	—	—	—	—	—	Tot.
4	9000	10 ^h 25'	—	—	—	—	—	—	—	4 cem Morphin. Eventeration beendet.
		10 ^h 26'	39,3	0,226	—	—	7,44	—	—	
		11 ^h 26'	39,5	0,204	—	—	—	—	—	
		12 ^h 10'	39,9	0,122	—	—	6,69	—	—	
		1 ^h 02'	—	0,094	—	—	6,72	— 58,4	— 9,7	
		1 ^h 10'	—	—	—	—	—	—	—	Tot.

Fast in allen Versuchen nimmt nach der Eventeration der Blutzuckergehalt sehr bedeutend ab. Gewöhnlich sinkt auch im Laufe des Versuchs die Blutkonzentration; eine geringe Hydrämie tritt auf; das erklärt sich aus der Abnahme des Blutdruckes. Wie bisher nicht publizierte Versuche von Nagy aus dem hiesigen Institut bewiesen, geht damit (entgegen anderen Angaben) regelmäßig eine Blutverdünnung Hand in Hand. Die Abnahme der Blutkonzentration in unseren Versuchen ist jedoch meistens ganz unbedeutend gegenüber der Abnahme des Blutzuckers. Sie kann also letztere nicht erklären.

In Versuch 7 sinkt allerdings der Blutzuckergehalt nur soweit, als die Blutkonzentration abnimmt. Dieser Versuch beweist also noch keinen Zuckerverbrauch. Das Tier starb jedoch bereits 15 Minuten nach der Eventeration; das kann der Grund für die geringe Abnahme des Zuckers sein.

Tabelle III.

Die Wirkung der Eventeration auf den Blutzuckergehalt pankreasdiabetischer Hunde.

Versuchs-Nr.	Gewicht g	Tag nach der Pankreas- extirpation	Zeit	Tempe- ratur °C	Blut- zucker ‰	Hämo- globin ‰	Blutkör- perchen- volumen ‰	Änderung		Anmerkungen
								des Blut- zucker- gehaltes ‰	der Blut- konzent- ration ‰	
5	4700	9	10 ^h 15'	37,3	0,346	117,5	—	—	—	Im Urin 2,5 ‰ Dextrose und Aceton. Eventeration von 10 ^h 20' bis 10 ^h 34'. Gleich darauf tot.
			10 ^h 34'	—	—	—	—	—	—	
			10 ^h 40'	—	0,326	114,4	—	—	—	
			11 ^h 00'	—	0,253	110,5	—	-22,4	-3,4	
6	7300	13	10 ^h 15'	39,7	0,276	110,5	—	—	—	Event. v. 10 ^h 21' bis 10 ^h 34'. 3 ccm Curare. Gleich darauf tot.
			10 ^h 34'	—	—	—	—	—	—	
			10 ^h 35'	—	0,267	108,5	—	—	—	
			11 ^h 25'	38,6	0,172	107,4	—	-35,6	-1,0	
7	3900	7	11 ^h 30'	36,5	0,252	—	40,0	—	—	Im Harn $\frac{D}{N} = 2,2$, Aceton. Eventeration von 11 ^h 20' bis 11 ^h 40'. Gleich darauf tot.
			11 ^h 40'	—	0,340	—	—	—	—	
			11 ^h 45'	36,5	—	—	—	—	—	
			12 ^h 00'	36,5	0,311	—	36,3	-8,5	-9,2	
8	7700	11	10 ^h 05'	37,6	0,286	65,4	—	—	—	Im Urin 3,7 ‰ Dextrose. Eventeration beendet. 12 ^h 30' tot.
			10 ^h 27'	—	—	—	—	—	—	
			10 ^h 28'	—	0,301	65,8	—	—	—	
			11 ^h 12'	—	0,232	62,7	—	—	—	
			12 ^h 00'	—	0,151	63,1	—	—	—	
			12 ^h 30'	—	0,148	62,3	—	-50,8	-5,3	
9	10 500	9	3 ^h 55'	38,7	0,250	124,6	—	—	—	Im Urin 8 ‰ Dextrose. Eventeration beendet. 6 ^h 25' tot.
			4 ^h 30'	—	—	—	—	—	—	
			4 ^h 35'	—	0,322	125,0	—	—	—	
			5 ^h 35'	—	0,327	108,9	—	—	—	
			6 ^h 08'	—	0,336	105,8	—	+4,3	-15,0	

In Versuch 8, der so wie der vorige an einem pankreasdiabetischen Tiere gemacht wurde, sank im Gegensatz zu den anderen Versuchen der Blutzuckergehalt nicht, sondern nahm sogar eher zu. Das ist um so merkwürdiger, als die Blutkonzentration abnahm. Wenn es auch auffallend ist, daß dieses Resultat gerade an einem pankreasdiabetischen Tiere gewonnen wurde, so können wir ihm, da es ganz vereinzelt dasteht, keine weitere Bedeutung zumessen.

Unsere Versuche führen also insofern zu einer Bestätigung des Befundes von Macleod und Pearce, daß auch wir nach der Eventeration normaler und pankreasdiabetischer Tiere, bei letzteren allerdings nicht immer, den Blutzucker abnehmen

sahen, was nicht durch eine Änderung der Blutkonzentration bewirkt sein konnte.

Wenn nun aber auch bewiesen ist, daß der Zucker verbraucht wird, so bleibt es dennoch vollkommen fraglich, ob er auch verbrannt (d. h. bis zur CO_2 oxydiert) wird. Dafür gibt dieser Versuch, das müssen wir ganz besonders hervorheben, noch gar keinen Beweis, denn der verschwundene Traubenzucker kann z. B. zu Glykogen umgewandelt oder nur unvollständig abgebaut worden sein, es kann also dabei eine eigentliche Zuckerverbrennung fehlen.

Der zweite Punkt, auf den wir aufmerksam machen wollen, ist der, daß auch eine Folgerung auf das nicht eventurierte diabetische Tier nicht ohne weiteres zulässig ist. Denn angenommen, diese entlebten diabetischen Tiere würden den Zucker tatsächlich verbrennen, so wäre es immer noch möglich, daß durch die Entfernung der Leber eine Hemmung fortgeschafft wird, die im pankreasdiabetischen Tiere die Oxydation des Zuckers unmöglich macht. Aus dem vorliegenden Versuchsergebnis folgt also auch noch nicht direkt, daß das pankreasdiabetische Tier überhaupt den Zucker verbrauchen kann.

Jedenfalls gibt uns aber der Versuch von Macleod und Pearce eine wichtige Tatsache zum weiteren Studium des Pankreasdiabetes in die Hand.

Beitrag zur Kenntnis der „spezifisch-dynamischen Wirkung“ der Nährstoffe.

Von

S. Cserna und G. Kelemen.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiologische Chemie der Universität Budapest. [Direktor: F. Tangl.])

(Eingegangen am 12. Juni 1914.)

Durch die Versuche Tangls¹⁾ an nierenlosen Tieren wurde bewiesen, daß Stoffe wie Harnstoff und Kochsalz, die im Organismus nicht zersetzt werden, auch dann eine Steigerung des Stoff- und Energieumsatzes erzeugen können, wenn die Exkretionsarbeit der Nieren ausgeschlossen ist und eine Resorptionsarbeit nicht angenommen werden kann. Tangl erklärt diese Erhöhung des Stoff- und Energieumsatzes (auch eine spezifisch dynamische Wirkung) durch die Wirkung dieser Stoffe auf das Zellprotoplasma verschiedener Organe. Diese Erklärung hat auch bereits N. Zuntz²⁾ ins Auge gefaßt in dem Aussprache, daß die Wirkung durch Beeinflussung sonstiger Organleistungen möglich wäre.

Es blieb aber noch eine andere Deutung übrig: „Man könnte vielleicht daran denken“ — sagt N. Zuntz³⁾ —, „daß in den Versuchen von Tangl bei fehlender Niere der Harnstoff in den Darm ausgeschieden wurde und daß die hierfür angewendete Energie an der Stoffwechselsteigerung beteiligt ist.“

Herr Prof. F. Tangl stellte uns die Aufgabe, durch Versuche, die wir unter seiner Leitung ausführten, zu prüfen, ob diese letztere Deutung zulässig ist.

¹⁾ Diese Zeitschr. **34**, 1, 1911.

²⁾ Med. Klin. **1910**.

³⁾ In Oppenheimers Handb. d. Biochem. **4**, 1. Teil, S. 876.

Wir untersuchten, ob nach vollständiger Entfernung aller Baucheingeweide (Darm, Pankreas, Milz, Leber und Nieren) bzw. deren Ausschaltung aus dem Kreislauf die Injektion von Harnstoff und Kochsalz in solchen Quantitäten, wie sie Tangl zu seinen Versuchen angewandt hat, eine Steigerung des Gaswechsels bewirkt. Diesen Substanzen haben wir dann noch Dextrose zugefügt und auch deren Wirkung auf den Gaswechsel eventrierter Tiere untersucht.

Methodik.

Die Respirationsversuche wurden nach der von Tangl angegebenen Methodik an curarisierten Hunden ausgeführt. Den Tieren wurden die erwähnten Substanzen intravenös injiziert, nachdem vorher ihr ganzer Darmtrakt ausgeschaltet war. Letzteres geschah nach zwei verschiedenen Methoden. In dem einen Teile unserer Versuche wurde die Aorta abdominalis unmittelbar nach ihrem Austritt zwischen den Schenkeln des Zwerchfells abgebunden. In der gleichen Höhe wurde auch die V. cava abgeschnürt. Damit war die ganze untere Körperhälfte aus dem Kreislauf ausgeschaltet. In einer zweiten Reihe von Versuchen haben wir dagegen den ganzen Darm von der Cardia bis zum Rectum in einem Stück entfernt, nachdem die entsprechenden Blutgefäße unterbunden waren. Gleichzeitig wurden auch die Milz und das Pankreas, und in einem Teil der Versuche auch die Nieren exstirpiert. Durch die Abschnürung der Vena portae sowie der Arteria hepatica war auch die Leber aus dem Kreislauf geschaltet, und um hierin ganz sicher zu sein, haben wir mittels langer Klemmen auch die kurzen Vv. hepaticae vor ihrer Einmündung in die V. cava abgeklemmt. Um uns von der Ausschaltung der Leber zu überzeugen, injizierten wir nach beendetem Versuche 100 bis 200 ccm einer wässrigen Methylenblaulösung zentralwärts in die Carotis des Tieres und schnitten die Leber sogleich an; dabei trat niemals eine Blaufärbung derselben auf.

Nach der Eventeration wurde die Bauchhöhle mit Gaze ausgefüllt und die Bauchwand zugenäht.

Diese Operation wurde in Äthernarkose ausgeführt. Nach ihrer Beendigung ließen wir das Tier erwachen. Ungefähr $\frac{3}{4}$ Stunden später wurde es dann tracheotomiert, curarisiert,

künstliche Atmung eingeleitet und dann mit dem Respirationsversuch begonnen. Die Temperatur wurde in der Bauchhöhle oder zwischen den Halsmuskeln gemessen. Der Blutdruck wurde von der Carotis aus registriert. Injiziert wurde in die V. jugularis. Die Konzentration der zur Injektion benutzten Lösungen war dieselbe wie in den erwähnten Versuchen Tangla. Die Hunde waren 36 Stunden vor dem Versuch zum letzten Male gefüttert.

Versuche.

Vor allem mußten wir untersuchen, wie sich der Gaswechsel nach Ausschaltung der Bauchorgane eine längere Zeit hindurch gestaltet. Nur wenn er einigermaßen konstant war, konnten wir daran gehen, die Wirkung von verschiedenen Injektionen zu untersuchen. In Tabelle I bis V sind unsere 5 diesbezüglichen Versuchsreihen wiedergegeben.

Bei den Versuchstieren 1 bis 3 (Tabelle I bis III) war vor Beginn des Versuchs die Aorta samt Vena cava inferior unterbunden; die Versuchstiere 4 und 8 (Tabelle IV und V) dagegen waren nach der obigen Methode eventeriert.

In Tabelle I und II nimmt im Laufe des Versuchs nach und nach der Sauerstoffverbrauch etwas zu. Dasselbe beobachtete in ganz ähnlicher Weise Tangl nach Ausschaltung der Nieren. Wir werden es also auch hier auf den Ausfall ihrer Funktion beziehen dürfen.

Tabelle I.

Unterbindung der Aorta abdominalis unmittelbar unterhalb des höchsten Punktes der Diaphragmawölbung.

Nummer des Versuchstieres: 1. Körpergewicht: 6050 g.

Datum: 7. VI. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Abnahme	CO ₂ -Zunahme	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen			
				in der Ventilationsluft							pro Minute		
				ccm	%						%	ccm	ccm
				des Versuchs									
1	10 ^h 40'	8' 47"	2103	1,18	1,18	24,7	24,8	1,003	166				
2	11 ^h 10'	8' 09"	2124	1,32	1,22	28,0	25,9	0,926	163				
3	11 ^h 40'	8' 26"	2140	1,24	1,20	26,5	25,7	0,969	152				
4	12 ^h 10'	8' 10"	2184	1,30	1,22	28,4	26,7	0,940	142				
5	12 ^h 40'	8' 47"	2175	1,28	1,19	27,8	25,9	0,930	125				
6	1 ^h 10'	8' 43"	2188	1,29	1,18	28,3	25,8	0,911	84				

Tabelle II.

Unterbindung der Aorta, V. cava inj. und V. portae unmittelbar unterhalb des höchsten Punktes der Diaphragmawölbung um 9^h 55'.

Nummer des Versuchstieres: 2. Körpergewicht: 10,300 g.

Datum: 13. VI. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Abnahme	CO ₂ -Zunahme	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen	
				in der Ventilationsluft		pro Minute						
				ccm	%	%	ccm					ccm
				des Versuchs								
1	11 ^h 15'	5' 56"	3221	2,05	1,85	66,2	59,5	0,898	39,80 39,76	148		
2	11 ^h 45'	5' 29"	3191	2,10	1,84	66,9	58,7	0,876	39,86 39,92	152		
3	12 ^h 15'	5' 45"	3242	2,13	1,84	69,1	59,5	0,861	39,98 39,96	158		
4	12 ^h 45'	5' 36"	3223	2,25	1,88	72,5	60,7	0,837	39,74 39,76	139		
5	1 ^h 15'	5' 25"	3231	2,23	1,88	72,1	60,8	0,843	40,22 40,26	150		
6	1 ^h 45'	5' 40"	3252	2,13	1,80	69,2	58,6	0,846	40,60 40,56	84		

Tabelle III.

Unterbindung der Aorta, V. cava inf. und V. portae unmittelbar unterhalb des höchsten Punktes der Diaphragmawölbung um 9^h 40'.

Nummer des Versuchstieres: 3. Körpergewicht: 10400 g.

Datum: 14. VI. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Abnahme	CO ₂ -Zunahme	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Ausgabe	CO ₂ O ₂	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
				in der Ventilationsluft		pro Minute					
				ccm	%	%	ccm				
1	10 ^h 25'	7' 40"	2471	2,27	1,86	56,1	45,9	0,817	39,1 39,2	84	12 ^h 18' Exitus.
2	10 ^h 40'	7' 27"	2488	2,14	1,86	53,3	46,2	0,867	39,3 39,5	105	
3	10 ^h 55'	7' 15"	2531	2,10	1,87	53,1	47,4	0,893	39,6 39,7	90	
4	11 ^h 10'	7' 16"	2531	2,01	1,83	50,9	46,3	0,909	39,8 39,8	72	
5	11 ^h 30'	7' 14"	2522	2,08	1,89	52,3	47,6	0,909	39,7 39,8	62	
6	11 ^h 50'	7' 23"	2522	1,90	1,80	47,8	45,2	0,944	39,8 40,0	68	

Tabelle IV.

Eventeration: 10^h 00' (Nieren unberührt).

Nummer des Versuchstieres: 4. Körpergewicht: 5700 g.

Datum: 26. IX. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
				in der Ventilationsluft		pro Minute					
				ccm	%	%	ccm				
des Versuchs			ccm	%	%	ccm	ccm				
1	11 ^h 00'	6' 57"	2366	1,37	1,04	32,5	24,6	0,757	34,5 35,0	60	
2	11 ^h 30'	6' 34"	2538	1,27	0,94	32,3	24,0	0,743	35,5 35,5	62	
3	12 ^h 00'	7' 05"	2586	1,07	0,81	27,8	20,9	0,753	35,3 35,0	58	
4	12 ^h 30'	7' 04"	2487	0,98	0,83	24,4	20,7	0,849	34,8 34,9	40	
5	1 ^h 00'	6' 50"	2592	0,90	0,73	23,4	18,9	0,806	35,4 35,5	38	1 ^h 40' Exitus.

In Tabelle III und IV sinkt nach und nach der Sauerstoffverbrauch, was wohl damit zusammenhängt, daß diese Hunde nach dem schweren operativen Eingriffe einen sehr schlechten Blutdruck hatten, der dann später noch beträchtlich sank. Ein derartiges Abnehmen des Sauerstoffverbrauchs kann gewöhnlich an sterbenden Tieren beobachtet werden.

Am schönsten ist Versuch 8 (Tabelle V). Hier konnten wir das eventerierte Tier 6¹/₂ Stunden am Leben erhalten. In den ersten 2 Stunden war der Sauerstoffverbrauch konstant; dann sank er etwas, blieb aber während der 3. bis 5. Stunde auf der gleichen Höhe, um endlich, als auch der Blutdruck sehr schlecht wurde, rapid zu sinken.

Die CO₂-Abgabe bleibt in Tabelle I bis III bei Tieren, denen die Aorta und V. cava inf. unterbunden war, auf gleicher Höhe. In Tabelle IV bis V ändert sie sich parallel dem Sauerstoffverbrauch.

Besondere Aufmerksamkeit verdient der respiratorische Quotient $\left(\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}\right)$ dieser Tiere. Bekanntlich hat Porges¹⁾ an Kaninchen nach Unterbindung sämtlicher Bauchgefäße, womit

¹⁾ Porges, diese Zeitschr. 36, 131, 1911.

Tabelle V.

Eventeration: 10^h 20' (samt Nieren).

Nummer des Versuchstieres: 8. Körpergew. ohne Eingeweide usw.: 5900 g.

Datum: 4. X. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{CO_2}{O_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Vers. ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
				in der Ventilationsluft		pro Minute					
				ccm	%	%	ccm				
1	11 ^h 05'	12' 44"	1706	2,40	1,98	40,9	33,8	0,825	36,7 36,1	140	
2	11 ^h 30'	13' 42"	1766	2,42	2,03	42,7	35,9	0,841	37,0 37,1	142	
3	12 ^h 00'	12' 39"	1787	2,39	2,14	42,6	38,2	0,895	37,1 37,1	142	
4	12 ^h 30'	13' 01"	1766	2,37	2,03	41,8	35,9	0,858	37,0 36,9	144	
5	1 ^h 00'	13' 07"	1796	2,26	1,92	40,7	34,4	0,845	36,8 36,8	136	
6	1 ^h 30'	12' 51"	1779	2,00	1,73	35,6	30,7	0,859	36,9 36,9	134	
7	2 ^h 00'	12' 45"	1868	2,01	1,68	37,5	31,5	0,839	37,1 37,2	120	
8	2 ^h 30'	13' 15"	1747	2,18	1,80	38,0	31,4	0,824	37,2 37,2	109	
9	3 ^h 00'	11' 51"	1851	1,94	1,65	36,0	30,5	0,847	37,4 37,4	90	
10	3 ^h 30'	12' 41"	1741	2,19	1,80	38,0	31,3	0,824	37,6 37,8	56	
11	4 ^h 00'	13' 03"	1749	1,63	1,38	28,4	24,2	0,849	37,1 37,6	26	
12	4 ^h 30'	12' 48"	1775	1,07	0,88	19,0	15,7	0,824	37,3 37,2	22	4 ^h 50' Exitus.

im wesentlichen die Leber ausgeschaltet werden sollte, sehr hohe respiratorische Quotienten beobachtet und daran weitgehende Folgerungen gefügt, die zu vielfachen Kontroversen Anlaß gegeben haben. Ohne auf diese Literatur hier einzugehen, erwähnen wir nur, daß bereits Grafe und Fischler¹⁾ nach vorsichtiger Ausschaltung der Leber von Hunden meistens keine Erhöhung des respiratorischen Quotienten sahen. Wie aus der folgenden Tabelle VI, in der auch die Quotienten aus den noch später zu erwähnenden Versuchen aufgenommen sind, hervorgeht, bewegen sich in unseren Versuchen dieselben ganz und gar in normalen Grenzen. Unter 10 Fällen haben

¹⁾ Fischler und Grafe, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 108, 516, 1912.

Tabelle VIa.

Der respiratorische Quotient eventrierter Hunde.

Nummer des Versuches	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Nummer des Versuches	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$
1	0,946	6	0,835
2	0,860	7	0,701
2	0,889	8	0,845
4	0,781	9	0,856
5	0,844	10	0,848

wir nur einmal einen Wert über 0,9 beobachtet. Wir können also die Angabe von Porges, daß die Ausschaltung der Baucheingeweide, und insbesondere der Leber, den respiratorischen Quotient stark erhöht, bei Hunden nicht bestätigen.

Tabelle VII.

Eventration: 10^h 00' (Nieren unberührt).

Nummer des Versuchstieres: 5. Körpergew. ohne Eingeweide usw.: 6910 g.

Datum: 27. IX. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute des Versuchs	O ₂ -Ab- nahme in der Ven- tilationsluft	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
				ccm	0/0	0/0	ccm	ccm			
1	10 ^h 40'	8' 38"	2136	1,74	1,47	37,3	31,5	0,845	35,5 36,0	140	
2	11 ^h 00'	8' 27"	2212	1,84	1,57	40,7	34,8	0,855	36,2 36,5	136	
3	11 ^h 12'	8' 50"	2134	1,95	1,62	41,7	34,7	0,832	36,8 36,8	132	
4	12 ^h 00'	9' 10"	2168	1,95	1,73	42,3	37,6	0,888	36,3 36,2	132	Von 11 ^h 23' bis 53' 2,5 g Ureum in 50 ccm Lö- sung (5%) infundiert.
5	12 ^h 15'	8' 39"	2213	1,84	1,50	40,8	33,3	0,817	36,2 36,0	130	
6	12 ^h 40'	8' 43"	2291	1,66	1,35	38,1	31,1	0,815	36,0 36,0	114	
7	1 ^h 30'	7' 28"	2335	1,76	1,46	41,2	34,2	0,830	36,2 36,8	90	Von 12 ^h 50' bis 1 ^h 25' 2,5 g Ureum in 50 ccm Lö- sung (5%) infundiert.
8	1 ^h 45'	8' 22"	2226	1,78	1,45	39,6	32,2	0,812	36,8 37,0	86	
9	2 ^h 00'	7' 37"	2471	1,48	1,20	36,7	29,6	0,805	37,0 37,0	60	
10	3 ^h 00'	6' 47"	2578	1,38	1,21	35,6	31,3	0,879	36,2 36,1	62	Von 2 ^h 30' bis 3 ^h 00' 2,5 g Ureum in 50 ccm Lö- sung (5%) infundiert.

Getötet um 3^h 55' (wegen niederen Blutdrucks), Harnblase leer.

Tabelle VIII.

Eventeration: 10^h 00' (Nieren unberührt).

Nummer des Versuchstieres: 6. Körpergew. ohne Eingeweide usw.: 3910 g.

Datum: 1. X. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute ccm	O ₂ -Abnahme		CO ₂ -Zunahme	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Ausgabe	CO ₂ O ₂	Körpertemperatur am Anfang u. Ende Versuchs ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
des Versuchs				in der Ventilationsluft		pro Minute	pro Minute					
				%	%			ccm	ccm			
1	10 ^h 55'	10' 52"	1703	1,08	0,91	18,4	15,6	0,848	35,5 35,5	110		
2	11 ^h 15'	10' 44"	1675	1,05	0,83	17,6	14,0	0,794	35,2 35,0	100		
3	11 ^h 30'	10' 51"	1709	0,89	0,77	15,3	13,2	0,865	34,6 34,5	95		
4	12 ^h 10'	10' 45"	1677	1,27	1,22	21,3	20,5	0,962	34,0 34,0	112	11 ^h 45' bis 12 ^h 10': Infusion von 50 ccm 10% iger Dextroselösung.	
5	12 ^h 30'	10' 27"	1682	1,11	0,95	18,2	16,0	0,853	34,0 34,0	124	12 ^h 10' bis 12 ^h 25': Infusion von 50 ccm 10% iger Dextroselösung.	
6	12 ^h 50'	11' 19"	1686	1,21	0,84	20,4	14,1	0,694	34,0 34,2	96		
7	1 ^h 10'	10' 42"	1691	1,09	0,62	18,5	10,5	0,569	34,3 34,5	98		

Getötet um 1^h 45'. In der Harnblase 35 ccm Harn, darin 2,1% = 0,8 g Zucker.

Unsere bisher beschriebenen Versuche zeigen, daß in den ersten Stunden nach der Eventeration der Gaswechsel recht konstant ist. Wir konnten deshalb daran gehen, die Wirkung der intravenösen Injektion verschiedener Stoffe zu prüfen. In Tabelle VII bis XI sind diese Versuche wiedergegeben.

In allen Versuchen wurde so verfahren, daß zuerst einige Bestimmungen des Gaswechsels des eventerierten Tieres gemacht wurden (Normalbestimmungen). Dann folgte die Injektion irgendeiner Lösung. Gewöhnlich haben wir dann nach einiger Zeit wieder dieselbe oder eine andere Substanz injiziert. In dem Versuch 5 und 6 (Tabelle VII und VIII) waren die Nieren unberührt; in dem Versuch 7, 9 und 10 (Tabelle IX, X und XI) dagegen entfernt.

Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, hat die intravenöse Injektion von Dextrose, Kochsalz und Harnstoff in allen Versuchen eine Steigerung des Gaswechsels zur Folge, ebenso wie

Tabelle IX.

Eventeration: 10^h 05' (samt Nieren).

Nummer des Versuchstieres: 7. Körpergew. ohne Eingeweide usw.: 6750 g.

Datum: 2. X. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Abnahme	CO ₂ -Zunahme	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Ausgabe	CO ₂ O ₂	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen			
				in der Ventilationsluft	pro Minute									
						ccm	%					%	ccm	ccm
1	10 ^h 50'	9' 24"	2349	1,76	1,24	41,3	29,0	0,702	35,2 35,3	72				
2	11 ^h 10'	9' 45"	2393	1,82	1,27	43,4	30,3	0,698	35,3 35,3	69				
3	11 ^h 25'	9' 54"	2340	1,84	1,30	43,1	30,4	0,705	35,3 35,3	66				
4	11 ^h 50'	9' 36"	2342	2,03	1,60	47,6	37,4	0,785	35,0 35,0	86	11h36'bis11h50': Infusion von 50 ccm 10% iger Dextroselösung.			
5	12 ^h 10'	9' 57"	2385	2,08	1,54	49,7	36,7	0,738	35,2 35,3	100	11h52'bis12h25': Infusion von 50 ccm 10% iger Dextroselösung.			
6	12 ^h 35'	9' 38"	2449	2,10	1,56	51,4	38,1	0,740	36,0 36,0	105				
7	1 ^h 00'	10' 10"	2403	2,16	1,61	51,8	38,7	0,746	36,9 37,0	114				
8	1 ^h 25'	9' 41"	2493	2,00	1,57	49,9	39,2	0,786	36,8 36,8	112				
9	1 ^h 50'	9' 48"	2478	2,11	1,75	53,5	43,4	0,811	36,5 36,5	100	1h38'bis2h05': Infusion von 50 ccm 10% iger Dextroselösung.			
10	2 ^h 15'	9' 28"	2513	2,07	1,65	51,9	41,3	0,795	37,0 37,1	148				
11	2 ^h 55'	9' 25"	2448	2,15	1,66	52,7	40,7	0,771	37,2 37,2	150				
12	3 ^h 20'	9' 30"	2461	1,99	1,54	49,1	38,0	0,773	37,0 37,0	142				
13	3 ^h 50'	9' 25"	2477	2,06	1,72	51,1	42,7	0,836	36,8 36,2	116	3h31'bis3h47': Infusion von 50 ccm 5% iger Ureumlösung.			
14	4 ^h 15'	9' 24"	2465	2,10	1,52	51,9	37,3	0,720	36,2 36,4	100				
15	5 ^h 00'	9' 12"	2407	2,16	1,50	52,1	36,2	0,695	36,2 36,2	124				
16	5 ^h 35'	9' 27"	2310	1,80	1,29	41,5	29,9	0,720	35,8 35,8	137				

Getötet um 5^h 55': Nach Methylenblauinjektion durch die Carotis: In der Art. femoralis blaufärbtes Blut, in der Leber dunkles Stauungsblut.

am unversehrten Tiere, oder an Tieren, dessen Nieren entfernt sind. In Tabelle XII haben wir zusammenfassend die Werte für den Sauerstoffverbrauch vor und nach den verschiedenen Injektionen zusammengestellt. Da einerseits, in den späteren

Tabelle X.

Eventeration: 11^h 30' (samt Nieren).

Nummer des Versuchstieres: 9. Körpergew. ohne Eingeweide usw.: 7210 g.

Datum: 5. II. 1914.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	CO ₂ O ₂	Arterieller Blutdruck	Anmerkungen	
				in der Ventilationsluft			pro Minute				
				ccm	%	%	ccm				ccm
1	1 ^h 30'	12' 11"	1788	2,07	1,74	37,0	31,1	0,841	120		
2	1 ^h 55'	12' 00"	1802	2,02	1,70	36,4	30,6	0,840	110		
3	2 ^h 15'	12' 12"	1828	1,86	1,65	34,0	30,2	0,889	112		
4	2 ^h 45'	12' 11"	1849	2,18	2,40	40,3	37,7	0,936	106	2h 30' bis 2h 42': Infusion von 50 ccm 10% iger Dextrose- lösung.	
5	3 ^h 10'	12' 14"	1829	2,16	1,91	39,5	35,0	0,885	108	2h 48' bis 2h 58': Infusion von 50 ccm 10 % iger Dextrose- lösung.	
6	3 ^h 40'	11' 53"	1836	2,14	1,67	39,2	30,7	0,784	106		
7	4 ^h 10'	11' 54"	1848	2,23	1,96	41,1	36,2	0,879	104	3h 55' bis 4h 06': Infusion von 50 ccm 10 % iger Dextrose- lösung.	
8	4 ^h 40'	11' 44"	1919	2,15	1,72	41,2	33,0	0,801	102		
9	5 ^h 25'	12' 26"	1857	2,26	2,07	42,0	38,4	0,912	90	5h 17' bis 5h 25': Infusion von 50 ccm 10 % iger Dextrose- lösung.	
10	6 ^h 10'	11' 51"	1850	2,62	2,52	48,4	46,6	0,961	92	6h 00' bis 6h 12': Infusion von 100 ccm 5 % iger NaCl-Lösg.	
11	6 ^h 30'	11' 15"	1820	2,52	1,95	45,9	35,5	0,773	98		

Stunden nach der Eventeration, und andererseits, als Folge der verschiedenen Infusionen, doch allerlei Veränderungen des Gaswechsels zustande kommen könnten, so haben wir in dieser zusammenfassenden Tabelle nur das Resultat der jeweiligen ersten Injektion in Betracht gezogen. Es geht aus der Tabelle deutlich hervor, daß alle diese Stoffe eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs und der CO₂-Abgabe bewirkten.

Besonders erwähnt seien noch die Versuche, in denen Dextrose infundiert wurde. In allen drei Versuchen stieg nach der Injektion der respiratorische Quotient zum Zeichen dafür, daß der Zucker auch von diesen eventerierten, ihrer Leber, Pankreas, Milz und Darmes beraubten Tieren prompt verbrannt wurde.

Das Resultat unserer Versuche ist also, daß die intravenöse Injektion von verschiedenen Stoffen, sowie Harnstoff, Kochsalz oder Dextrose auch an eventerierten Tieren eine Steigerung des Gaswechsels be-

Tabelle XI.

Eventeration: 10^h 0' (samt Nieren).

Nummer des Versuchstieres: 10. Körpergew. ohne Eingeweide usw.: 11440 g.

Datum: 12. II. 1914.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O ₂ -Abnahme in der Ventilationsluft ‰	CO ₂ -Zunahme ‰	O ₂ -Verbrauch pro Minute ccm	CO ₂ -Ausgabe ccm	CO ₂ O ₂	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Arterieller Blutdruck mm Hg	Anmerkungen
1	12 ^h 15'	8' 22"		2538	1,50	1,30	38,2	32,9	0,863	—	70	
2	12 ^h 35'	8' 19"		2568	1,46	1,22	37,5	31,3	0,832	—	86	
3	1 ^h 10'	8' 16"		2538	2,11	1,84	53,5	46,7	0,872	—	140	12 ^h 50' bis 1 ^h 10': 100 ccm
4	1 ^h 35'	8' 12"		2585	1,26	1,03	32,6	26,7	0,819	—	42	5%ige NaCl-Lösung.
5	2 ^h 00'	8' 50"		2538	1,25	1,07	31,6	27,3	0,861	—	38	
6	2 ^h 35'	8' 37"		2510	2,45	1,86	61,4	46,6	0,757	—	76	2 ^h 08' bis 3 ^h 32': 100 ccm
7	2 ^h 55'	8' 36"		2546	1,53	1,15	38,9	29,2	0,750	—	54	5%ige NaCl-Lösung.
8	3 ^h 20'	8' 18"		2421	1,16	0,79	28,0	19,1	0,682	37,0 37,6	48	
9	3 ^h 45'	8' 54"		2518	1,04	0,64	26,2	16,1	0,612	37,6 37,6	24	
10	4 ^h 15'	8' 49"		2478	1,32	0,90	32,6	22,3	0,685	37,6 37,5	78	3 ^h 44' bis 4 ^h 13': 100 ccm
11	4 ^h 40'	8' 59"		2459	0,93	0,58	23,0	14,3	0,623	37,4 37,4	44	5%ige Ureumlösung.
12	5 ^h 05'	8' 33"		2485	0,88	0,51	21,9	12,7	0,579	37,4 37,4	22	
13	5 ^h 30'	9' 02"		2489	0,89	0,52	22,6	22,9	0,584	36,9 36,9	50	5 ^h 14' bis 5 ^h 32': 100 ccm
												5%ige Ureumlösung.

Getötet um 6^h 15'. Injektion von 50 ccm Methylenblau in die Carotis:

Muskel bläulich, Leber dunkelbraun.

Tabelle XII.

(Generaltabelle.)

Nummer des Versuchstieres	In-fundierte Lösung	O ₂ -Verbrauch pro Min.				CO ₂ -Ausgabe pro Min.				CO ₂ O ₂	
		vor d. Infusion ccm	nach d. Infusion ccm	Veränderung		vor d. Infusion ccm	nach d. Infusion ccm	Veränderung		vor d. Infusion ccm	nach d. Infusion ccm
				ccm	‰			ccm	‰		
6	Dextrose	17,1	21,3	+ 4,2	+ 24,5	14,2	20,5	+ 6,3	+ 44,3	0,835	0,962
7	"	42,6	47,6	+ 5,0	+ 11,7	29,9	37,4	+ 7,5	+ 25,0	0,701	0,785
9	"	35,8	40,3	+ 4,5	+ 12,5	30,6	37,7	+ 7,1	+ 23,2	0,856	0,936
Mittel aus den 3 Versuchen											
mit Dextrose										+ 16,2	+ 30,8
5	Ureum	39,9	42,3	+ 2,4	+ 6,0	33,6	37,6	+ 4,0	+ 11,9	0,844	0,888
10	Kochsalz	37,8	53,5	+ 15,7	+ 41,5	32,1	46,7	+ 14,6	+ 45,4	0,848	0,872

wirkt. Diese Wirkung kann, wie wir aus den früheren Versuchen von Tangl wissen, nicht durch Erhöhung der Nierenarbeit bewirkt sein. Ebenso wenig kann ihr Grund in einer Erhöhung der Herzarbeit zu suchen sein, was schon daraus hervorgeht, daß verschiedene Substanzen, in gleichgroßen Flüssigkeitsquantitäten injiziert, diese Wirkung in ganz verschiedener Stärke entfalten. Durch diese Versuche ist ferner gezeigt, daß die Zunahme des Gaswechsels auch nicht durch Erhöhung der Arbeit des Darmes (Ausscheidungsarbeit) zustande kommt. Die den Gaswechsel steigernde Wirkung dieser verschiedenen Stoffe beruht also, wie es scheint, auf einer Wirkung auf die Zellen verschiedener Organe, in denen sie, so wie es Tangl ausgeführt hat „den Stoff- und Energieumsatz des Zellprotoplasmas erhöhen“.

Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes.

V. Mitteilung¹⁾.

Von

F. Verzár.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie und physiologische Chemie der Universität Budapest. [Direktor: F. Tangl.]

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Wird im Pankreasdiabetes Zucker oxydiert? Diese grundlegende Frage ist noch nicht endgültig gelöst. Die Zuckerausscheidung und der Mangel der Fähigkeit, zugeführten Zucker zu verbrauchen, wird mit zwei verschiedenen Annahmen erklärt: 1. Die Fähigkeit Dextrose zu verbrennen ist primär verschwunden, deshalb entwickelt sich die Hyperglykämie und deshalb wird auch injizierter Zucker nicht verbraucht. 2. Dextrose kann und wird auch verbrannt, jedoch wird dieselbe in solchem Übermaß produziert, daß dadurch der Körper mit Zucker „überladen“ ist, ihn deshalb ausscheidet und zugeführten Zucker auch nicht verbraucht.

Bis zum vorigen Jahre war die Möglichkeit einer Überproduktion und dadurch bedingter „sekundärer Nichtoxydation“ des zugeführten Zuckers zwar behauptet, jedoch nicht entsprechend bewiesen worden [siehe II. Mitteilung²⁾], während die andere Ansicht, daß der diabetische Organismus Zucker nicht oxydieren kann, eine starke Stütze durch die Arbeiten von verschiedenen Forschern, insbesondere von Knowlton und Starling³⁾ erhalten hatte, die behaupteten, daß das isolierte Herz von pankreasdiabetischen Tieren die Fähigkeit, Zucker

¹⁾ I. Mitt. diese Zeitschr. 44, 201; II. Mitt. ibid. 53, 140, 1913; III. Mitt. ibid. dieses Heft; IV. Mitt. ibid. dieses Heft.

²⁾ Diese Zeitschr. 53, 140, 1913.

³⁾ Journ. of Physiol. 45, 119, 1912.

aus einer Nährlösung zu verbrauchen, verloren hat. Inzwischen hat jedoch Starling diese Versuche mit Patterson und Cruickshank¹⁾ revidiert und ist zu dem Resultat gekommen, daß das isolierte Herz sowohl sein eigenes Glykogen als auch — wenn dieses aufgebraucht ist — den Zucker der Nährlösung verbraucht. Noch vor Starling hatten Macleod und Pearce²⁾ das Verschwinden des Blutzuckers bei entlebten pankreasdiabetischen Tieren beobachtet, und in der voranstehenden Mitteilung konnte dieser Befund vollkommen bestätigt werden. Aus der III. Mitteilung (siehe dieses Heft) geht weiter hervor, daß auch die Därme pankreasdiabetischer Tiere, ebenso wie normale, Zucker aus der Nährlösung verbrauchen. Damit wären nun die ersten tatsächlichen Anhaltspunkte zur vorläufigen Begründung der Annahme gegeben, daß auch der diabetische Organismus Zucker verbrennen kann. Über die Tragweite dieser Befunde soll jedoch erst weiter unten die Rede sein.

Demgegenüber habe ich mit v. Fejér in einer früheren Arbeit zeigen können, daß die Fähigkeit, den Zucker bis zur CO₂ zu oxydieren, dem pankreasdiabetischen Tiere nach und nach verloren geht. Wir fanden, daß eine intravenöse Dextroseinjektion ein sofortiges Ansteigen des respiratorischen Quotienten bei normalen Tieren bewirkt, daß diese Steigerung auch noch 1—2—3 Tage nach der Pankreasextirpation trotz des bereits vorhandenen Diabetes in geringerem Grade eintritt und erst etwa nach dem 4. Tage ganz verschwindet. Dann wird kein injizierter Zucker mehr verbrannt. Man konnte auf diese Weise gleichsam das Verschwinden der Fähigkeit den Zucker zu oxydieren beobachten. Diese Versuche schienen uns eine gute Stütze für die Auffassung zu sein, daß das Wesen des Pankreasdiabetes das primäre Fehlen der Fähigkeit Zucker zu oxydieren ist. Allerdings konnte gegen diese Versuche noch eingewendet werden, daß sie deshalb nichts für diese Frage beweisen, weil der intravenös injizierte Zucker nur deshalb nicht verbrannt wurde, weil der Körper dieser diabetischen

¹⁾ Patterson und Starling, Journ. of Physiol. 47, 137, 1913. — Cruickshank, ibid. 47, 1, 1913. — Cruickshank und Patterson, ibid. 47, 381, 1913.

²⁾ Amer. Journ. of Physiol. 32, 184, 1913 und 33, 378, 1914.

Tiere derart mit Zucker überflutet war, daß sie den noch zum Überfluß ihnen gereichten Zucker natürlich nicht angriffen. Eben deshalb ist ja auch der vielfach gemachte Befund, daß pankreasdiabetische Tiere den ihnen mit der Nahrung gereichten Zucker nicht verwerten, an sich noch kein Beweis dafür, daß der Zucker nicht verbrennen kann. Im folgenden soll nun geprüft werden, ob unsere Versuche dieser Einwand mit Recht treffen kann und ob sich sonst Anhaltspunkte dafür finden lassen, daß der Zucker nicht oxydiert wird.

I. Die Verbrennung von intravenös injiziertem Traubenzucker.

Bekanntlich tritt die Hyperglykämie und mit ihr auch die Glucosurie nach der Exstirpation des Pankreas sehr bald, in einigen Stunden oder zum mindesten im Laufe des ersten Tages ein; d. h. — um den oben benutzten Ausdruck zu gebrauchen — der Organismus ist bereits am ersten Tage mit Zucker „überladen“. Er könnte also, wenn die Zuckerverbrennung ungestört wäre, seinen Energieverbrauch zum größten Teile mit Zucker decken, so wie es der Fall ist, wenn man sehr viel Zucker einführt. Die Hyperglykämie müßte nach dieser Auffassung schon der Ausdruck dafür sein, daß so viel Zucker produziert wird, daß trotzdem der Körper schon sehr viel Zucker verbraucht, immer noch Zucker übrig bleibt. Trotzdem sehen wir aber auch noch in diesem Stadium eine Erhöhung des respiratorischen Quotienten, d. h. also eine Zuckerverbrennung, wenn noch mehr Zucker injiziert wird. Auf eine noch größere zugeführte Zuckermenge kann also immer noch mehr Zucker verbrannt werden. Einige Tage später, wenn die Hyperglykämie kaum größer ist, sehen wir aber auf eine Zuckerzufuhr keine Verbrennung mehr erfolgen. Trotzdem also in beiden Fällen der Körper mit Zucker überladen war, wie die in beiden vorhandene Hyperglykämie beweist, so war dennoch im ersten Fall die Verbrennung von zugeführtem Zucker möglich, und im zweiten Fall nicht. Das beweist wohl schon an sich, daß nicht die Überladung mit Zucker (die Hyperglykämie) die Ursache dafür sein kann, daß später keine Zuckerverbrennung mehr erfolgt. Nur um hierfür noch zahlenmäßige Beispiele zu bringen, habe ich — trotzdem diese Tat-

sache bereits aus meinen Versuchen mit v. Fejér hervorgeht — noch einige weitere Respirationsversuche gemacht und gleichzeitig auch den Blutzuckergehalt bestimmt. Es geht aus diesen Versuchen wieder hervor, daß trotz bereits vorhandener Hyperglykämie die Zuckerverbrennung am Anfang des Diabetes noch vorhanden ist und in späteren Stadien fehlt.

Ehe wir zur Besprechung dieser Respirationsversuche schreiten, möchte ich einen Überblick über die Größe der Hyperglykämie pankreasdiabetischer Hunde geben und habe deshalb in Generaltabelle I verschiedene von mir bestimmte Werte zusammengestellt. Der Blutzuckergehalt von normalen Hunden ist nach den Bestimmungen von Kraus und Seiner

Generaltabelle I.
Der Blutzuckergehalt pankreasdiabetischer Hunde.

Nr.	Tag nach der Pankreas- exstirpation	Zucker in 100 ccm Blut g	Anmerkung
1	Mittel von 10 normalen Hunden	0,086	(s. dieses Heft S. 56)
2	1. Tag nach der Exstirpation	0,176	
3	1. " " " "	0,218	
4	1. " " " "	0,279	
5	2. " " " "	0,230	
6	3. " " " "	0,350	
7	5. " " " "	0,480	
8	6. " " " "	0,492	
9	7. " " " "	0,252	
10	7. " " " "	0,361	
11	7. " " " "	0,383	
12	9. " " " "	0,250	
13	9. " " " "	0,346	
14	9. " " " "	0,330	
15	11. " " " "	0,410	
16	11. " " " "	0,286	
17	12. " " " "	0,395	
18	21. " " " "	0,331	

an unnarkotisierten Tieren 0,086% und schwankt zwischen 0,060 bis 0,110%. Die pankreasdiabetischen Werte zeigen, daß zwar im allgemeinen die Größe der Hyperglykämie im Laufe des Diabetes zunimmt, daß aber auch am ersten und zweiten Tage schon annähernd so hohe Blutzuckerwerte gefunden werden wie an den späteren Tagen. Alle Werte sind morgens, an nüchternen Tieren gewonnen.

In 7 Respirationsversuchen wurde wieder Dextrose injiziert (Generaltabelle II; s. Versuchsreihe 1 bis 7 im Anhange).

Generaltabelle II.

Vers.-Nr.	Nach der Pankreas-exstirpation Tage	Blutzucker (in 100 com Blut)	Respirat. Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$		Differenz	Anmerkungen
			Mittel (vor der Zucker-injektion)	Höchster Wert nach der Zucker-injektion		
1	1	0,176	0,695	0,923	+ 0,228	Beträchtliche Steigerung des R.Q., die auch noch zwei Stunden nach der Zucker-injektion besteht.
2	1	0,218	0,728	0,845	+ 0,117	
3	1	0,279	0,695	0,772	+ 0,077	
4	2	0,230	0,703	0,752	+ 0,049	Schwache Steigerung nur während der Injektion.
5	3	0,350	0,699	0,730	+ 0,031	Schwache Steigerung des R.Q. jedoch nur während der Injektion.
6	6	0,492	0,727	0,775	+ 0,048	Schwache Steigerung nur während der Injektion.
7	9	0,330	0,698	0,705 (0,733?)	+ 0,007	

Die Methodik war ganz dieselbe wie die in der zweiten Mitteilung beschriebene: curarisierte Hunde, künstliche Atmung, konstante Temperatur, Bestimmung des Blutdruckes und Bestimmung des Gaswechsels nach Zuntz-Geppert. Injiziert wurde intravenös pro Gramm und Minute immer die gleiche Menge einer 10%igen (etwa isosmotischen) Dextroselösung. Die Blutzuckerbestimmungen sind nach Bertrand durch Ent-eiweißung mit kolloidalem Eisen (Michaelis-Rona) gemacht.

In den 3 Versuchen, die an Hunden mit 1 tägigem Diabetes ausgeführt wurden (Versuchsreihe 1 bis 3) stieg der respiratorische Quotient (R.Q.) nach der Injektion sehr bedeutend und blieb längere Zeit erhöht. (S. auch Generaltabelle II.) In allen Fällen war eine ausgesprochene Hyperglykämie vorhanden. Es fällt auf, daß die Zuckerverbrennung um so vollkommener ist, je schwächer die Hyperglykämie, also der Diabetes war. Wesentlich ist aber wohl, daß überhaupt eine Hyperglykämie vorhanden war, daß also der Körper nach unserem obigen Ausdruck „mit Zucker überladen“ war. Trotzdem wurde auch der zugeführte Zucker noch oxydiert. Besonderes Interesse erfordert Fall 1. In diesem, der noch nicht ganz 1 Tag nach der Exstirpation untersucht wurde, war zwar eine Hyperglykämie, jedoch noch keine Glucosurie vorhanden. Der seit der Exstirpation gelassene

spärliche Urin reduzierte jedoch auf eine Weise, die auf Glucuronsäuren schließen ließ. Leider war zu wenig Urin vorhanden, um eine genaue Bestimmung auszuführen¹⁾.

In den Versuchsreihen 4 bis 7, die am 2. bis 9. Tage des Diabetes gemacht wurden, war keine sichere Zuckerverbrennung zu konstatieren. In Versuch 4 an einem 2tägigen sowie in Versuch 6 an einem 6tägigen Diabetes betrug die Erhöhung des R.Q. 0,049 bzw. 0,048; sie bestand jedoch nur während der Injektion, und gleich darauf waren die Quotienten wieder ebenso niedrig wie vor der Injektion. Ob das genügt, um in diesen beiden Fällen noch eine geringe Zuckerverbrennung anzunehmen, möchte ich dahingestellt sein lassen; wahrscheinlich erscheint es mir nicht.

Ganz klar sind dagegen die Versuchsreihen 5 und 7, denn in beiden war so gut wie gar keine Änderung nach der Zuckerinjektion vorhanden. Trotzdem war in beiden, und das ist hier das Wichtige, die Hyperglykämie kaum größer als in Versuch 2 und 3, in denen der Zucker noch verbrannt wurde!

Die ganze Frage wird klar beleuchtet durch einen Vergleich von Versuch 2 und 3 mit Versuch 5 und 7. Sie zeigen sehr überzeugend, daß nicht die Hyperglykämie den Grund dafür abgibt, daß in den letzteren 2 Versuchen der injizierte Zucker nicht mehr verbrannt wird. Der Blutzucker ist in den beiden ersten Fällen 0,218 bzw. 0,279‰, in den letzteren (5 und 7) 0,350 bzw. 0,330‰. Dieser geringe Unterschied in der Größe des Blutzuckergehaltes kann wohl kaum der Grund des unterschiedlichen Verhaltens sein. Das Wesentliche für diese Frage ist, daß überhaupt eine Hyperglykämie vorhanden ist²⁾.

¹⁾ Sehr merkwürdig und mir noch kaum erklärlich ist, daß der Blutzuckergehalt in den ersten Stunden des Versuches sehr bedeutend zunahm, so in Versuch 2 von 0,218 auf 0,435, in Versuch 3 von 0,279 bis 0,417, in Versuch 4 von 0,144 auf 0,230. In den Versuchen an späteren Tagen (Versuch 5, 6, 9) war das kaum ausgesprochen. Daß noch vor der Zuckerinjektion viel höhere Blutzuckerwerte vorhanden waren als vorher, beweist natürlich nur a fortiori, daß die Fähigkeit, Zucker zu verbrennen, nicht von der Hyperglykämie abhängt.

²⁾ Es dürfte auffallen, daß während in der früheren (II.) Mitteilung gesagt wurde, daß bis zum 4. Tage eine Zuckerverbrennung nachweisbar ist, hier einesteils ein Fall vorkommt, in dem am 2. Tage nur eine unbedeutende (oder gar keine), am 6. Tage eine ebensolche und

Alles in allem ergibt sich also, daß die in der Hyperglykämie zum Ausdruck kommende Überschwemmung des Körpers mit Zucker schwerlich der Grund dafür sein kann, daß im Pankreasdiabetes in den späteren Tagen injizierter Zucker nicht mehr verbrannt wird. Es bleibt deshalb wohl kaum eine andere Erklärungsmöglichkeit, als daß die Fähigkeit, Zucker zu oxydieren, primär gestört ist.

II. Die Verbrennung von Lävulose.

Es gelingt auch noch auf einem anderen Wege zu zeigen, daß im Pankreasdiabetes die Fähigkeit, Kohlenhydrat zu verbrennen, schwindet. Weintraud und Laves¹⁾ haben bereits in einem Falle gezeigt²⁾, daß ein pankreasdiabetischer Hund Lävulose verbrennen konnte, und von diabetischen Menschen ist das ja allgemein bekannt. Ich habe nun in Respirationsversuchen mit intravenöser Injektion von Lävulose in mehreren Fällen das gleiche gefunden. Ich verfuhr meist so, daß ich zuerst Dextrose injizierte. Diese bewirkte keine Steigerung des R.Q. Nun wurde Lävulose injiziert. In den Versuchsreihen 5, 6 und 7 (s. Anhang S. 91 u. ff.), die vom 3., 6. bzw. 9. Tage des Diabetes stammen, stieg hierauf sogleich sehr deutlich der R.Q., die Lävulose wurde also verbrannt. In der Generaltabelle III ist zum Vergleich das Mittel der R.Q. vor den Injektionen, dann der höchste Wert nach der Dextroseinjektion angeführt, der in diesen Fällen zwar etwas höher ausfiel als die Werte vor der Injektion (jedoch nur während der Injektion so hoch war und deshalb auch bedeutungslos ist) und sehr bald wieder Normalwerten Platz machte. Erst dann erfolgte die Lävuloseinjektion,

am 3. Tage sicher gar keine Verbrennung vorhanden ist. Das ist kein Widerspruch zu meinen früheren Angaben, sondern es zeigt nur, daß die Grenzen, an denen die letzte Spur der Zuckerverbrennung verschwindet, eben nicht genau für jeden Fall gleich abzustecken sind. Sicher ist, daß je später man untersucht, um so sicherer keine Erhöhung des R.Q. nach einer Zuckerinjektion findet. Interessant ist auch, welche kolossalen Blutzuckerwerte nach diesen Injektionen auftreten und (wie man sich an curarisierten oder auch nicht curarisierten Tieren überzeugen kann) gut vertragen werden.

¹⁾ Weintraud und Laves, Zeitschr. f. physiol. Chem. 19, 629 bis 646, 1894.

²⁾ Was ich allerdings erst nachträglich bemerkt habe.

Generaltabelle III.
(Mittelwerte.)

Vers.-Nr.	Nach der Pankreas- Tage exsirtation	Respiratorischer Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$			Differenz (Normal — Lävulose)	Anmerkungen
		Mittel (vor der Zucker- injektion)	Höchster Wert nach d. Dextrose- injektion	Höchster Wert nach d. Lävulose- injektion		
5	3	0,699	0,730	0,861	+ 0,162	{ Dextrosewirkung kaum vor- handen, Lävulosewirkung sehr stark.
6	6	0,727	0,775	0,836	+ 0,109	
7	9	0,698	0,705 (0,733?)	0,791	+ 0,093	Vor der Lävuloseinjektion Steigerung des R.Q., wahr- scheinlich ohne Bedeutung.
8	12	0,702	—	0,707	+ 0,005	Lävulose ist ganz wirkungslos.
9	21	0,706	—	0,753 (0,727)	+ 0,047	Lävulosewirkung kaum vor- handen, höchstens ganz vor- übergehend.

deren höchster Quotient in der nächsten Rubrik steht. Demgemäß ist auch die Erhöhung des R.Q. in diesen auf die Vorzuckerperiode bezogen. Ich hebe hervor, daß dieselbe nicht nur sehr bedeutend, sondern — wenn daraufhin untersucht wurde — auch lange andauernd war. Sie bedeutet also sicherlich, daß Kohlenhydrat verbrannt wurde.

Ich glaube nun, daß man mit vollem Recht sagen darf: Wenn der Körper die injizierte Dextrose deshalb nicht verbrannte, weil er ohnehin seinen Energiebedarf soweit als möglich mit Dextrose deckte, so kann man durchaus nicht einsehen, warum er dann sogleich ein anderes Kohlenhydrat angreift. Das kann nur einen Grund haben, daß er nämlich nicht die Dextrose, dagegen die Lävulose oxydieren kann. So scheint mir auch dieser Versuch — allerdings auf indirekte Weise — dafür zu sprechen, daß die Fähigkeit, Dextrose zu oxydieren, im Pankreasdiabetes fehlt.

Diese Versuche haben aber auch noch zu einem anderen Resultate geführt. Es zeigte sich, wie erwähnt, daß am 3., 6. und 9. Tage trotz voll entwickeltem Diabetes noch Lävulose verbrannt wurde. Am 12. und 21. Tage (Versuch 8 und 9) dagegen fand ich, daß auch die Lävulose nicht mehr oxydiert wurde¹⁾. Das kann nur damit erklärt werden, daß nun auch die Oxydationsfähigkeit für Lävulose ver-

¹⁾ In Versuch 8 wurde nach der Lävulose noch Galaktose injiziert. Auch diese wurde nicht verbrannt.

schwunden ist. Es ist interessant, daß auch außerhalb des Organismus die Lävulose leichter oxydiert wird als die Dextrose. Nach diesen Versuchen behält demnach das pankreasdiabetische Tier noch eine Zeitlang die Fähigkeit, Lävulose zu oxydieren, bis es endlich auch diese Fähigkeit verliert. Im Pankreasdiabetes geht also ganz allmählich die Oxydationsfähigkeit für Kohlenhydrate verloren; erst verschwindet sie nach und nach für Dextrose und erst nach viel längerer Zeit auch für die leichter oxydierbare Lävulose.

III. Die Zuckerverbrennung des entleberten pankreasdiabetischen Tieres.

In Mitteilung IV wurde der Versuch von Macleod und Pearce ausführlich besprochen, der in dem Nachweis besteht, daß wenn man die Leber des pankreasdiabetischen Tieres durch Eventeration aus dem Kreislauf schaltet, d. h. die Zuckerbildung wegschafft, der Blutzucker verschwindet. Wir haben aber betont, daß damit noch nicht gesagt ist, daß der Zucker auch verbrannt wird. Und andererseits, wenn dieser Zucker nun tatsächlich verbrannt würde, so müßte immer noch daran gedacht werden, daß durch die Entfernung der Leber eine Hemmung aus dem Wege geschafft wurde, die im pankreasdiabetischen Tiere die Zuckerverbrennung vereitelt. So wäre der folgende Mechanismus denkbar: Von der Leber gehen beständig hemmende Einflüsse in bezug auf die Zuckerverbrennung zu den Organen. Eine Funktion des Pankreas ist diese Hemmung zu paralysieren. Fehlt diese Pankreaswirkung, so bleibt nur die Hemmung der Leber bestehen. Der Körper kann dann keinen Zucker verbrennen und es entsteht Diabetes. Entfernt man aber jetzt auch die Leber, so fällt die Hemmung fort und die Organe können wieder Zucker oxydieren.

Wenn diese Erklärung des Macleod und Pearceschen Versuches richtig wäre, so müßte das entlebte pankreasdiabetische Tier auf eine Dextroseinjektion mit einer Steigerung des R.Q. antworten. Wie jedoch die Versuchsreihen 10, 11, 12 (s. Anhang und Generaltabelle IV) zeigten, war das nicht der Fall. Also auch nach Eventeration bzw. nach Entleberung läßt sich nicht nachweisen, daß Zucker verbrannt wird.

Generaltabelle IV.

Vers.-Nr.	Nach der Pankreas- exstirpation Tage	Respirat. Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$		Differenz	Anmerkungen
		Eventerliert Mittel	Nach der Dextrose- infusion Maximum		
10	7	0,677	0,669	—	
11	7	0,724	0,766	+ 0,042	Steigerung nur während der Injektion.
12.	8	0,691	0,698	+ 0,007	Später wegen schlechtem Blutdruck Erhöhung bis zu 0,781

Die Eventeration wurde in diesen Versuchen in Äthernarkose, nach der in der IV. Mitt. angegebenen Weise, ausgeführt. Dann ließ ich die Tiere erwachen. Wartete mindestens 1 Stunde oder mehr, brachte sie in einen Thermostaten, curarisierte sie und führte dann nach der gewohnten Methode einen Respirationsversuch aus. Ich habe nur Tiere benutzt, deren Blutdruck tadellos war, und arbeitete nie an sterbenden Tieren. Unter diesen Verhältnissen stieg nach der Dextroseinjektion der respiratorische Quotient nicht. An normalen eventerierten Tieren bewirkt dagegen nach den Versuchen von Cserna und Kelemen (s. dieses Heft S. 63) eine Zuckerinjektion regelmäßig eine Erhöhung des R.Q. Nur in einem meiner Versuche, den ich der Vollständigkeit halber hier erwähnen will, stieg nach der Zuckerinjektion der Quotient bedeutend an. In diesem Versuch war jedoch der Blutdruck vorher sehr schlecht und die Infusion verbesserte die Herzarbeit. In solchen Fällen kann aber natürlich vorher angehäuften CO_2 infolge der Beschleunigung des Blutkreislaufs aus dem Körper ausgewaschen werden. Zudem flossen in diesem Versuch durch ein Versehen plötzlich 42 ccm über 50°-ige Zuckerlösung in die Vene; das Tier starb auch 50 Minuten später. Der Versuch ist also in jeder Hinsicht mißglückt und ich kann ihm deshalb gar keine Beweiskraft zuschreiben. Um so beweisender sind aber — wie gesagt — die drei anderen Versuche, die an Tieren, die in sehr gutem Zustande waren, ausgeführt wurden.

Auch sonst haben diese Versuche zu einem wichtigen Resultate geführt. In dem viel umstrittenen Versuche von Porges bzw. Porges und Salomon wird angegeben, daß nach Unterbindung der Bauchgefäße, was im wesentlichen die Aus-

schaltung der Leber bezwecken soll, sowohl bei normalen als auch bei diabetischen Tieren ein hoher respiratorischer Quotient gefunden wird. Das soll beweisen, daß nun nur noch Zucker verbrannt wird, und hierauf wird die Lehre der Zuckerüberproduktion ohne Störung der Zuckeroxydation im Pankreasdiabetes aufgebaut.

Schon Fischler und Grafe¹⁾ und in diesem Hefte auch Cserna und Kelemen²⁾ zeigen, daß nach Entleberung bzw. Eventeration normaler Hunde keine oder nur ausnahmsweise hohe respiratorische Quotienten gefunden werden. Hier zeigt sich nun für pankreasdiabetische Hunde, daß auch deren R.Q. nach der Eventeration genau derselbe ist, wie bei nicht eventerierten pankreasdiabetischen Tieren, nämlich 0,677, 0,724 und 0,691. Die hohen Quotienten von Porges und Salomon beruhen also jedenfalls auf ihrer Methodik, so wie ich es schon gesagt hatte und wie es unlängst auch Murlin, Edelmann und Kramer nachgewiesen haben³⁾.

Vielleicht ist hier noch ein weiteres Wort gestattet. Man glaubt gewöhnlich, die Zuckerbildung aus Fett laufe in der Leber ab. Wenn diese wegfällt, so ist der Grund für die sehr niedrigen respiratorischen Quotienten, wenn deren Bedeutung die Zuckerbildung aus Fett ist, verschwunden und man müßte nun, wenn die Zuckeroxydation in diesen Tieren nicht gestört ist, erwarten, daß der R.Q. sich erhöht, so wie es Porges zu finden glaubte. Da nun das aber nicht der Fall ist, so muß man gerade umgekehrt folgern, daß also kein Kohlenhydrat von diesen Tieren verbrannt wird.

Diese Versuche führen also einesteils dadurch, daß sie auch nach Ausschaltung der Leber niedrige Quotienten geben, und andererseits dadurch, daß auch nach einer Zuckerinjektion keine Erhöhung des R.Q. stattfindet, zur Bestätigung der Ansicht, daß auch bei entleberten pankreasdiabetischen Tieren der Zucker nicht bis zu CO₂ oxydiert wird.

¹⁾ Deutsch. Arch. f. klin. Med. 106, 516, 1912.

²⁾ Diese Zeitschr. dieses Heft, S. 63.

³⁾ Porges, diese Zeitschr. 27, 131, 1910. — Porges und Salomon, ebenda S. 143. — Porges, ebenda 36, 342. — Verzá, ebenda 34, 52, 1911 und 42, 201, 1912. — Fischler und Grafe, Arch. f. klin. Med. 106, 516, 1912. — Rolly, Münch. med. Wochenschr. 22, 23, 1912 und 1914. — Murlin, Edelmann und Kramer, Journ. of Biolog. Chem. 16, 79, 1914. — Böhm, Centralbl. f. Physiol. 27, 120, 1913 (Referat).

IV. Welche Gründe sprechen für und welche gegen eine Zuckerverbrennung im Pankreasdiabetes?

Wir wollen im folgenden zusammenfassen, was sich auf Grund des bisher dargestellten zugunsten der beiden Theorien des Pankreasdiabetes sagen läßt.

Für eine Zuckerverbrennung im Pankreasdiabetes spricht, daß das isolierte Herz solcher Tiere (Starling und Mitarbeiter), und ebenso der isolierte Darm (Verzář und Krauß) Zucker aus der Nährlösung verbraucht und daß der Blutzucker nach der Eventeration verschwindet (Macleod und Pearce). In der Kritik dieser Versuche habe ich bereits wiederholt hervorgehoben, daß für keinen dieser Fälle bisher bewiesen ist, daß das Verschwinden des Blutzuckers auch bedeutet, daß er verbrannt wird.

Im Gegenteil, man kann Anhaltspunkte dafür finden, daß dieses Verschwinden möglicherweise keine Verbrennung ist. So haben wir auf die Angabe von Rona und Neukirch¹⁾ hingewiesen, daß der Zucker vom isolierten Darm auch in einer Wasserstoffatmosphäre in kaum geringerem Grade verbraucht wird als in Sauerstoff. Wenn also im ersteren Falle der Zuckerverbrauch anoxybiotisch vor sich geht, so ist es unwahrscheinlich, daß in Gegenwart von Sauerstoff derselbe Verbrauch in gleicher Größe oxydativ ablaufen soll. Vielleicht ist also auch bei Gegenwart von Sauerstoff das Verschwinden des Zuckers keine Verbrennung bis zur CO_2 .

Für das Herz haben wir die Bemerkung von Evans²⁾ zitiert. Die verhältnismäßig niedrigen respiratorischen Quotienten von Zucker verbrauchenden normalen Herzen führen auch diesen Autor zu dem Gedanken, daß die Zuckerverbrennung unvollkommen sein muß³⁾.

Für die eventerierten Tiere endlich muß es, nach dem weiter oben ausgeführten, noch durchaus fraglich erscheinen, ob das Verschwinden des Blutzuckers auch Zuckerverbrennung bedeutet. Ja, der niedrige R.Q., sowie der Umstand, daß auch bei diesen eine Zuckereinjektion den R.Q. nicht erhöht, sprechen dagegen.

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. **146**, 371, 1912.

²⁾ Journ. of Physiol. **47**, 412, 1914.

³⁾ Auch Murlin und Kramer (Journ. of Biolog. Chem. **15**, 365, 1913) betonen, daß der Zuckerverbrauch des Herzens noch nicht beweist, daß der Zucker auch verbrannt wird.

Diese Befunde zusammenfassend, kommen wir zu dem Resultate, daß das pankreasdiabetische Tier zwar allem Anschein nach den Zucker in irgendeiner Weise verbrauchen kann, daß es jedoch noch nicht bewiesen ist, daß dieser Verbrauch eine Verbrennung ist.

Was spricht nun für die andere Theorie, daß der Zucker im Pankreasdiabetes nicht oxydiert wird?

Wir fanden, daß die Injektion von Dextrose verschieden lange Zeit nach der Pankreasekstirpation je später um so weniger den R.Q. erhöht. Die Fähigkeit, Dextrose zu oxydieren, verschwindet kontinuierlich nach und nach. Sie ist am Anfang des Diabetes auch dann noch vorhanden, wenn schon eine Hyperglykämie besteht, wenn also bereits der Körper Überfluß an Zucker hat. Andererseits vermißt man an späteren Tagen die Zuckerverbrennung, wenn die Hyperglykämie kaum größer ist als an früheren.

Ferner wurde gezeigt, daß ein anderes Kohlenhydrat, Lävulose, oxydiert wird zu einer Zeit, als die Fähigkeit Dextrose zu verbrennen längst verschwunden ist. Es wäre kaum zu begreifen, warum der Körper noch Lävulose angreift, wenn er nur den Überfluß an Dextrose verbraucht, sonst aber seinen Energiebedarf damit deckt. — Ferner verschwindet endlich auch die Fähigkeit, Lävulose zu oxydieren, und dafür läßt sich nun erst recht kein anderer Grund anführen, als daß eben primär und in zunehmendem Maße die Oxydationsfähigkeit für Kohlenhydrate schwindet.

Ich glaube, daß diese Befunde kaum zu einer anderen Folgerung führen können, als daß im Pankreasdiabetes der Körper die Fähigkeit, Zucker bis zur Kohlensäure zu verbrennen, verliert.

Suchen wir nun aber das zu vereinigen, was für und gegen die Zuckerverbrennung gesagt worden ist, so glaube ich, daß bei dem gegenwärtigen Stande dieser Frage vorläufig soviel feststeht, daß die pankreasdiabetischen Organe den Zucker auf irgendeine Weise verbrauchen, daß aber eine Oxydation bis zur CO_2 -Bildung im ganzen Körper nicht stattfindet.

Wenn also, wie vielfach angenommen wird ¹⁾, die Zerlegung

¹⁾ Z. B. Zuntz für den Zuckerverbrauch bei Muskelbewegung; Rona und Döblin für die Blutglykolyse; Rona und Neukirch für den Zuckerverbrauch des Darmes usw.

des Zuckermoleküls im Körper zuerst eine anoxybiotische Vorstufe hat und die Oxydation bis zur CO_2 erst auf diese folgt, so liegt es nahe, daran zu denken, daß im Pankreasdiabetes diese zweite Stufe fehlt. Ich bemerke ausdrücklich, daß das noch weder experimentell festgestellt noch genügend für eine Theorie begründet ist! Jedenfalls muß noch untersucht werden, ob bei den isolierten Organen eine vollständige Oxydation des Zuckers tatsächlich auszuschließen bzw. nachzuweisen ist. Ich habe gelegentlich die Möglichkeit erwähnt, ohne aber damit irgendeine Theorie des Diabetes geben zu wollen, daß die Oxydation bis zur Milchsäure geht. Forscbach¹⁾ hat diese Idee aufgenommen, kommt aber in interessanten, jedoch leider noch nicht ausreichenden Versuchen zu der Ansicht, daß die Bildung von „Lactacidogen“, der hypothetischen Vorstufe der Milchsäure, vermindert sein soll. Vielleicht weist gerade die Frage nach den Zwischenstufen des Zuckerabbaues den Weg, den die weitere Forschung auf diesem Gebiete einzuschlagen hat.

Anhang. Tabellen.

Tabelle I.

Versuchsreihe 1.

Körpergewicht: 6500 g. Temp.: 38,2°. Datum: 18. IV. 1914.

Pankreasextirpation: 17. IV. 1914 nachm. 5^h.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Abnahme		CO ₂ -Zunahme	O ₂ -Verbrauch	CO ₂ -Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
				in der Ventilationsluft							
				ccm	%	%	ccm	ccm			
				des Versuchs							
1	3 ^h 47'	8' 40"	2548	2,58	1,79	65,7	45,6	0,694	38,9	Blutzucker: 0,176%.	
2	4 ^h 08'	8' 20"	2599	2,40	1,67	62,5	43,3	0,693	38,8		
3	4 ^h 26'	9' 11"	2558	2,42	1,65	61,8	42,2	0,682	38,6		
4	4 ^h 47'	8' 48"	2574	2,48	1,76	63,9	45,4	0,711	39,1		
5	5 ^h 18'	8' 51"	2574	2,52	2,19	64,8	56,5	0,870	39,0—38,9	Von 4 ^h 48' bis 5 ^h 38' 160 ccm 10%ige Dextrose-Infusion.	
6	5 ^h 38'	8' 31"	2574	2,44	2,25	62,8	58,0	0,923	38,9—38,7		
7	6 ^h 17'	8' 51"	2531	2,07	1,88	52,4	47,6	0,909	38,5		
8	7 ^h 08'	4' 32"	2603	2,36	1,92	61,4	49,9	0,812	39,2		
9	8 ^h 29'	8' 11"	2573	2,24	1,58	57,9	40,6	0,704	38,4—38,5		

Nach dem Versuch bei gutem Blutdruck getötet. An Stelle des Pankreas 1 bis 2 stecknadelkopfgroße an Pankreasreste (?) erinnernde, zertrümmerte Gewebsteile, sonst ganz reaktionslos.

Seit Anfang der Zuckerinfusion 120 ccm Urin mit 4,2% = 5,04 g Dextrose.

¹⁾ Diese Zeitschr. 58, 339, 1914.

Tabelle II.

Versuchsreihe 2.

Körpergewicht: 8000 g. Datum: 20. XI. 1913. Pankreasexstirpation:
19. XI. 1913 vorm. 12^h.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O ₂ -Abnahme in der Ventilationsluft %	CO ₂ -Zunahme %	O ₂ -Verbrauch pro Minute ccm	CO ₂ -Ausgabe ccm	CO ₂ O ₂	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
1	12 ^h 34'	14' 14"		2282	3,30	2,36	75,21	53,81	0,715	39,4—39,7	Blutzucker: 0,218% Urinzucker: 0,14%.
2	12 ^h 56'	11' 05"		2343	3,47	2,48	81,18	58,08	0,715	39,8	
3	2 ^h 00'	9' 41"		2330	3,18	2,32	74,02	53,96	0,729	39,5—39,4	
4	2 ^h 21'	9' 23"		2530	2,92	2,20	73,77	55,74	0,755	39,4—39,6	
5	2 ^h 59'	9' 12"		2355	3,16	2,51	74,39	59,11	0,795	39,4—39,2	2 ^h 35' 10 ccm Blutentnahme. 0,435% Zucker.
6	3 ^h 20'	9' 09"		2516	2,90	2,45	72,96	61,67	0,845	39,3—39,4	2 ^h 38' bis 3 ^h 18' 186 ccm 10%ige Dextrose-Infusion.
7	4 ^h 01'	10' 19"		2325	2,90	2,25	67,52	52,41	0,776	39,9—39,8	3 ^h 19' 10 ccm Blutentnahme. 0,939% Zucker.
8	4 ^h 49'	9' 29"		2396	2,42	1,94	58,01	46,36	0,799	39,1—39,0	6 ^h 15' 10 ccm Blutentnahme. 0,533% Zucker.

6^h 30' bei schlechtem Blutdruck getötet. Kein Pankreas. Keine Bauchfellentzündung.

Tabelle III.

Versuchsreihe 3.

Körpergewicht: 7000 g. Temp.: 38°. Datum: 23. XII. 1913.
Pankreasexstirpation: 22. XII. 1914 vorm. 12^h.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O ₂ -Abnahme in der Ventilationsluft %	CO ₂ -Zunahme %	O ₂ -Verbrauch pro Minute ccm	CO ₂ -Ausgabe ccm	CO ₂ O ₂	Körpertemperatur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
1	12 ^h 10'	10' 01"		2365	3,34	2,26	79,1	53,5	0,676	38,9—38,9	Blutzucker: 0,279% Urinzucker: 0,8%.
2	12 ^h 33'	9' 46"		2430	3,05	2,19	74,2	53,1	0,716	38,8—38,8	
3	1 ^h 01'	9' 40"		2397	3,25	2,25	77,9	54,0	0,693	39,1—39,2	1 ^h 15' 22 ccm Blutentnahme. Blutzucker: 0,417%.
4	1 ^h 43'	10' 20"		2343	3,45	2,66	80,7	62,4	0,772	38,8—38,7	1 ^h 23' bis 2 ^h 3' 171 ccm 10%ige Dextrose-Infusion.
5	2 ^h 06'	9' 56"		2380	3,24	2,38	77,1	56,7	0,735	38,8—39,0	2 ^h 4' 22 ccm Blutentnahme. Blutzucker: 0,950%.
6	2 ^h 51'	10' 17"		2212	2,92	2,21	64,5	48,9	0,758	39,2—39,2	
7	3 ^h 23'	10' 12"		2302	2,77	2,05	63,7	47,2	0,741	39,1—39,2	
8	4 ^h 00'	11' 14"		2287	2,27	1,71	51,9	39,1	0,753	39,3—39,2	

5^h 5' bei schlechtem Blutdruck getötet.

Sektion: Keine Pankreasreste. Hellgelbe Leber. Peritoneum rein.

Im Urin nach der Infusion 6,2% Zucker.

Tabelle IV.

Versuchsreihe 4.

Körpergewicht: 7000 g. Temp.: 37°. Datum: 18. XII. 1913.

Pankreasexstirpation: 16. XII. 1913.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O ₂ -Abnahme		CO ₂ -Zunahme		O ₂ -Verbrauch		CO ₂ -Ausgabe		CO ₂ O ₂	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Vers. °C	Anmerkungen
					in der Ven- tilationsluft		pro Minute								
					‰	‰	ccm	ccm							
1	11 ^h 40'	9' 40"	3205	2,49	1,71	79,8	54,8	0,686	37,8—38,0	Blutzucker: 9 ^h 45' = 0,146‰.					
2	12 ^h 03'	9' 21"	3313	2,48	1,74	82,0	57,5	0,701	37,9—37,6	12 ^h 45' = 0,230‰.					
3	12 ^h 31'	9' 17"	3423	2,31	1,67	79,0	57,1	0,723	37,8—37,8	Urinzucker: 7,7‰.					
4	1 ^h 10'	9' 31"	3299	2,56	1,92	84,4	63,5	0,752	37,9	Von 12 ^h 50' bis 1 ^h 30'					
5	1 ^h 37'	9' 34"	3312	2,33	1,64	77,1	54,5	0,706	37,9—38,0	171 ccm 10‰ige Dextrose. 12 ^h 45' 20 ccm Blut- entnahme. Blut- zucker: 0,230‰.					
6	2 ^h 10'	9' 43"	3319	2,10	1,47	69,7	48,9	0,701	38,1—38,2	1 ^h 33' 20 ccm Blut- entnahme. Blut- zucker: 0,757‰.					

Stirbt um 3 Uhr.

Tabelle V.

Versuchsreihe 5.

Körpergewicht: 8220 g. Datum: 5. I. 1914.

Pankreasexstirpation: 2. I. 1914 nachm. 4^h.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	in der Ventilationsluft		pro Minute		CO ₂ O ₂	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen
					O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe			
					%	%	ccm	ccm			
1	11 ^h 41'	8' 26"		2617	3,46	2,34	90,6	61,2	0,676	39,7	
2	12 ^h 05'	8' 49"		2642	3,28	2,34	86,6	61,7	0,712	39,7	
3	12 ^h 25'	8' 48"		2681	3,33	2,34	89,3	62,7	0,702	39,7	
4	12 ^h 49'	8' 24"		2683	3,36	2,37	90,1	63,6	0,706	39,7	12 ^h 58' 22 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,352‰.
5	1 ^h 25'	8' 06"		2679	3,49	2,55	93,6	68,3	0,730	39,3—39,5	1 ^h 04' bis 1 ^h 44' 201 ccm 10‰ige Dextroseinfus.
6	1 ^h 45'	8' 33"		2647	3,58	2,56	94,8	67,7	0,714	39,3—39,4	1 ^h 44' 22 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,919‰.
7	2 ^h 25'	8' 57"		2658	3,30	2,38	87,7	63,2	0,720	39,8	
8	3 ^h 07'	8' 29"		2669	3,21	2,28	85,5	60,8	0,710	39,7	
9	3 ^h 46'	8' 37"		2649	2,95	2,09	78,2	55,4	0,709	39,7	
10	4 ^h 28'	8' 42"		2547	3,41	2,87	87,0	73,1	0,840	39,8—39,9	4 ^h 02' bis 4 ^h 47' 175 ccm
11	4 ^h 46'	8' 35"		2602	3,26	2,80	84,8	72,9	0,861	39,9—40,0	10‰ige Lävuloseinfus.

Nach dem Versuch durch ein Versehen (Abstellung der künstlichen Atmung) getötet.

Nach der Dextroseinfusion bis zu Beginn der Lävuloseinjektion 150 ccm Urin mit 4,93‰ Zucker.

Tabelle VI.

Versuchsreihe 6.

Körpergewicht: 8200 g. Datum: 8. I. 1914.

Pankreasexstirpation: 2. I. 1914 nachm. 5^h.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	CO ₂ O ₂	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen
des Versuchs			ccm	in der Ven- tilationsluft	pro Minute	ccm	ccm			
				%	%					
1	12 ^h 14'	9' 13"	3308	2,00	1,49	66,0	49,2	0,745	38,6—38,2	Blutzucker: 0,492%. Urin- zucker: 11,1%.
2	12 ^h 32'	9' 16"	3350	2,34	1,67	78,3	56,0	0,715	38,1—38,0	
3	12 ^h 54'	8' 37"	3368	2,37	1,71	79,9	57,6	0,721	38,0	
5	1 ^h 28'	9' 23"	3373	2,80	2,17	94,5	73,2	0,775	38,7—38,8	1 ^h 05' 20 ccm Blutent- nahme; Blutzucker: 0,551%.
6	1 ^h 50'	8' 40"	3363	2,66	1,99	89,4	66,9	0,750	38,7—38,6	1 ^h 08' bis 1 ^h 48' 200 ccm 10%ig. Dextroseinfusion. 1 ^h 49' 20 ccm Blutent- nahme; Blutzucker: 1,88%.
7	2 ^h 22'	9' 30"	3307	2,54	1,81	83,9	59,7	0,712	38,4	
8	3 ^h 10'	9' 36"	3308	2,44	1,74	80,9	57,7	0,712	38,7—38,8	
9	3 ^h 32'	9' 50"	3268	2,47	1,66	80,6	54,2	0,672	38,8—38,6	3 ^h 43' 20 ccm Blutent- nahme; Blutzucker: 1,54%.
10	4 ^h 02'	9' 25"	3256	2,33	1,94	75,73	63,3	0,836	38,3—38,2	3 ^h 45' bis 4 ^h 25' 200 ccm 10%ig. Lävuloseinfusion. 4 ^h 26' 20 ccm Blutent- nahme; Blutzucker: 2,35%. (I)
11	4 ^h 27'	9' 20"	3204	2,42	2,00	77,4	64,1	0,829	38,4—38,5	
12	5 ^h 02'	9' 18"	3192	2,26	1,79	72,0	57,2	0,794	38,3—38,4	
13	5 ^h 47'	10' 00"	3266	1,76	1,41	57,5	46,0	0,800	38,4	

6^h 08' stirbt das Tier. Kein Urin während des ganzen Versuchs.
Auch im Darm keine Flüssigkeit. Sektion: Kein Pankreas. Leber verfettet.

Tabelle VII.

Versuchsreihe 7.

Körpergewicht: 9250 g. Temp.: 38,3°. Datum: 21. I. 1914.

Pankreasexstirpation: 12. I. 1914.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen		
				in der Ven- tilationsluft	pro Minute							
						%	%				ccm	ccm
			ccm	%	%	ccm	ccm					
1	11 ^h 56'	7' 52"	2787	3,19	2,24	88,9	62,3	0,701	39,5	Urinzucker: 5,4‰.		
2	12 ^h 19'	10' 36"	2766	3,23	2,25	89,4	62,3	0,697	39,5			
3	12 ^h 41'	11' 02"	2736	3,29	2,30	90,0	62,9	0,699	39,5			
4	1 ^h 15'	10' 18"	2894	3,25	2,27	94,2	65,6	0,697	39,6—39,7			
5	1 ^h 54'	9' 57"	2843	3,76	2,65	106,8	75,3	0,705	39,8	1 ^h 27' 20 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,330‰.		
6	2 ^h 18'	11' 02"	2858	3,51	2,47	100,3	70,7	0,704	39,9—40,0	1 ^h 32' bis 2 ^h 12' 226 ccm 10%ige Dextroseinfus.		
7	3 ^h 01'	10' 51"	2845	3,41	2,37	97,0	67,5	0,697	40,1—40,2			
8	3 ^h 36'	10' 35"	2914	3,18	2,33	92,7	68,0	0,733	40,2—40,3	2 ^h 13' 20 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,830‰.		
										3 ^h 55' 30 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,648‰.		

Tabelle VII (Fortsetzung).

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	CO ₂ O ₂	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Vers. ° C	Anmerkungen				
				in der Ven- tilationsluft	pro Minute	pro Minute	pro Minute							
											%	%	ccm	ccm
des Versuchs			ccm											
9	4 ^b 20'	9' 58''	2910	3,58	2,80	104,0	81,4	0,782	40,2—40,1	4 ^b 00' bis 4 ^b 40' 226 ccm 10 0% ige Lävuloseinfus.				
10	4 ^b 41'	10' 15''	2896	3,55	2,72	102,9	78,7	0,763	40,1—40,2					
11	5 ^b 13'	10' 42''	2863	3,03	2,40	86,7	68,6	0,791	40,4					

9	4 ^h 20'	9' 58"	2910	3,58	2,80	104,0	81,4	0,782	40,2—40,1	4 ^h 00' bis 4 ^h 40' 226 ccm
10	4 ^h 41'	10' 15"	2896	3,55	2,72	102,9	78,7	0,763	40,1—40,2	10%ige Lävuloseinfus.
11	5 ^h 13'	10' 42"	2863	3,03	2,40	86,7	68,6	0,791	40,4	

Stirbt um 5^h 55'.

1. Urin: Nach der Dextroseinfusion bis zu Beginn der Lävuloseinfusion 147 ccm Urin mit 5,13% Zucker (Dextrose).

2. Nach der Lävuloseinjektion 260 ccm Urin. Enthält 5,28% Zucker (Dextrose + Lävulose) reduziert, 3,89% Zucker polarisiert.

In der Normalperiode kaum 3 bis 4 ccm Urin.

Tabelle VIII.

Versuchsreihe 8.

Körpergewicht: 6200 g. Temp.: 38,3°. Datum: 24. I. 1914.

Pankreasexstirpation: 12. I. 1914.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	CO ₂ O ₂	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen					
											des Versuchs			pro Minute	
											in der Ventila- tionsluft				
											ccm	%	%	ccm	ccm
1	11 ^b 22'	8' 17"	2698	2,62	1,84	70,6	49,7	0,704	39,3—39,4	Blutzucker: 0,395 % Urinzucker = $\frac{2,41}{N} = \frac{2,41}{1,21}$ = 2,0. Zuckungen.					
2	11 ^b 37'	8' 53"	2655	2,66	1,85	70,7	49,1	0,694	39,5—39,55						
3	11 ^b 56'	8' 32"	2725	—	1,77	—	48,2	0,698	39,7—39,75						
4	12 ^b 23'	8' 05"	2760	2,50	—	69,0	—		39,68—39,7						
5	12 ^b 53'	7' 58"	2793	3,21	2,23	89,7	62,3	0,694	39,1—39,1	Von 12h 32' bis 1h 12' 151,6 ccm 10% ige Lävuloseinfusion.					
6	1 ^b 16'	8' 07"	2781	3,22	2,23	89,5	62,1	0,693	39,5—39,7 40,7	1 ^b 13' 20 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,778 %, als Dextrose berechnet.					
	7	1 ^b 42'	8' 03"	2746	3,10	2,09	84,3	57,3			0,680				
8	2 ^b 43'	7' 57"	2854	2,72	1,92	77,5	54,8	0,707	41,0	Von 1h 13' bis 2h 55' (nach der Lävuloseinfusion) 112 ccm Urin mit 4,78 % Zucker, als Dextrose berechnet. Drehung in 6 facher Verdünnung links 0,42°. 2h 55' 20 ccm Blutent- nahme. Blutzucker: 0,813 %, als Dextrose berechnet.					
9	3 ^b 23'	7' 50"	2750	2,81	2,00	77,3	55,0	0,711	40,6—40,5	3h 03' bis 3h 43' 151 ccm 10% ige Galaktose- infusion.					
10	3 ^b 44'	8' 12"	2599	3,00	2,03	78,0	52,9	0,678	40,4						
11	4 ^b 22'	7' 53"	2710	2,61	1,77	70,7	48,0	0,679	40,3—40,2						
12	5 ^b 19'	8' 14"	2661	2,43	1,65	64,6	43,8	0,677	40,1						
13	6 ^b 21'	8' 23"	2691	2,27	1,57	61,1	42,1	0,689	40,6						
14	7 ^b 14'	8' 12"	2789	2,02	1,36	56,4	37,9	0,670	40,5						

1	11 ^h 22'	8' 17"	2693	2,62	1,84	70,6	49,7	0,704	39,3—39,4	Blutzucker: 0,395% Urinzucker = $\frac{2,41}{N} = \frac{2,41}{1,21}$ = 2,0. Zuckungen.
2	11 ^h 37'	8' 53"	2655	2,66	1,85	70,7	49,1	0,694	39,5—39,55	
3	11 ^h 56'	8' 32"	2725	—	1,77	—	48,2	0,698	39,7—39,75	
4	12 ^h 23'	8' 05"	2760	2,50	—	69,0	—		39,68—39,7	
5	12 ^h 53'	7' 58"	2793	3,21	2,23	89,7	62,3	0,694	39,1—39,1	Von 12 ^h 32' bis 1 ^h 12' 151,6 ccm 10%ige Lävuloseinfusion.
6	1 ^h 16'	8' 07"	2781	3,22	2,23	89,5	62,1	0,693	39,5—39,7	1 ^h 13' 20 ccm Blutentnahme. Blutzucker: 0,778% als Dextrose berechnet.
7	1 ^h 42'	8' 03"	2746	3,10	2,09	84,3	57,3	0,680	40,7	Von 1 ^h 13' bis 2 ^h 55' (nach der Lävuloseinfusion) 112 ccm Urin mit 4,78% Zucker, als Dextrose berechnet. Drehung in 6 facher Verdünnung links 0,42°.
8	2 ^h 43'	7' 57"	2854	2,72	1,92	77,5	54,8	0,707	41,0	2 ^h 55' 20 ccm Blutentnahme. Blutzucker: 0,813% als Dextrose berechnet.
9	3 ^h 23'	7' 50"	2750	2,81	2,00	77,3	55,0	0,711	40,6—40,5	3 ^h 03' bis 3 ^h 43' 151 ccm 10%ige Galaktoseinfusion.
10	3 ^h 44'	8' 12"	2599	3,00	2,03	78,0	52,9	0,678	40,4	
11	4 ^h 22'	7' 53"	2710	2,61	1,77	70,7	48,0	0,679	40,3—40,2	
12	5 ^h 19'	8' 14"	2661	2,43	1,65	64,6	43,8	0,677	40,1	
13	6 ^h 21'	8' 23"	2691	2,27	1,57	61,1	42,1	0,689	40,6	
14	7 ^h 14'	8' 12"	2789	2,02	1,36	56,4	37,9	0,670	40,5	

Um 7^h 30' getötet. Sektion: Blase leer, seit 2^h 55' kein Urin! Leber etwas verfettet. Kein Pankreas. Keine Bauchfellentzündung.

Tabelle IX.

Versuchsreihe 9.

Körpergewicht: 5300 g. Temp.: 37,3°. Datum: 1. IV. 1914.

Pankreasexstirpation: 13. III. 1914.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen	
					in der Ventilationsluft			pro Minute				
					ccm	%	%	ccm				ccm
					ccm	%	%	ccm				ccm
1	10 ^h 48'	8' 16"	2617	2,39	1,81	62,6	47,5	0,758	38,3—38,5	Blutzucker: 0,831%. Urinzucker: 8,7%.		
2	11 ^h 14'	11' 15"	2589	2,29	1,57	59,4	40,6	0,683	38,6—38,4			
3	11 ^h 33'	12' 00"	2632	2,32	1,58	61,1	41,6	0,681	38,3—38,4			
4	12 ^h 11'	10' 35"	2809	2,29	1,61	64,3	45,1	0,702	39,3—39,4			
5	12 ^h 47'	10' 01"	2809	2,52	1,89	70,7	53,2	0,753	39,0—38,9	12 ^h 26' bis 1 ^h 6' 132 ccm 10%ige Lävuloseinfus. 1 ^h 7' 10 ccm Blutent- nahme 1,06% Zucker.		
6	1 ^h 08'	10' 10"	2839	2,57	1,87	73,1	53,2	0,727	38,9—39,2			
7	1 ^h 44'	10' 32"	2776	2,52	1,76	69,8	48,9	0,701	39,3—38,9			
8	2 ^h 36'	10' 21"	2745	2,29	1,60	62,8	43,8	0,696	38,7—38,9			
9	3 ^h 27'	10' 09"	2813	2,18	1,49	61,3	41,8	0,682	38,6—38,5			
10	4 ^h 10'	11' 02"	2744	2,25	1,45	61,7	39,9	0,645	39,0—39,0			

Um 4^h 30' bei gutem Blutdruck getötet. Sektion: kein Pankreas.

Keine Infektion. Blase leer. (Kein Urin während des Versuches.)

Tabelle X.

Versuchsreihe 10.

Körpergewicht: 7300 g. Temp.: 38,4°. Pankreasexstirpation: 17. III. 1914.

Eventeration: 24. III. 1914 vorm. 11 Uhr in Äthernarkose.

Nr.	Anfang	Dauer	des Versuchs	Atemvolum pro Minute ccm	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen
					in der Ventilationsluft		pro Minute				
					%	%	ccm	ccm			
1	11 ^h 48'	13' 27"	2181	3,43	2,39	74,70	52,06	0,697	37,8—38,5	Vor der Eventeration: Blutzucker: 0,361 ‰ in 10 ccm Blut. Urinzucker: 11,61 ‰.	
2	12 ^h 07'	11' 47"	2183	3,31	2,18	72,26	47,50	0,657	38,7—38,8		
3	12 ^h 29'	12' 36"	2189	3,42	2,30	74,8	50,6	0,674	38,9—39,0		
4	12 ^h 53'	12' 45"	2219	3,27	2,23	72,5	49,6	0,682	39,0—39,0		
5	1 ^h 30'	12' 44"	2209	3,53	2,37	78,0	52,2	0,669	38,7—38,7	1 ^h 10' bis 1 ^h 50' Infusion von 140 ccm 10 ‰ iger Dextrose.	
6	1 ^h 56'	13' 52"	2256	3,42	2,28	77,1	51,4	0,667	39,0—39,2		
7	2 ^h 25'	12' 52"	2210	3,15	2,12	69,7	46,9	0,673	39,3—39,1		
8	3 ^h 02'	11' 35"	2320	3,14	2,09	72,8	48,5	0,666	38,8—39,0		
9	4 ^h 46'	12' 23"	2306	2,85	1,88	65,8	43,2	0,657	40,1—39,6	4 ^h 38' 10 ccm Blut- entnahme. Blutzucker 1,106 ‰.	

6^h 15' kaum fühlbarer Herzschlag. Tier wird getötet. Blase leer.

Kein Blut in der Bauchhöhle. Leber verfettet.

Tabelle XI.

Versuchsreihe 11.

Körpergewicht: 6800 g. Temp.: 38,4°. Pankreasexstirpation: 11. III. 1914.

Eventeration in Äthernarkose: 18. III. 1914 vorm. 10^h 50'.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen
				in der Ventilationsluft		pro Minute				
				ccm	%	%	ccm			
2	12 ^h 01'	7' 40"	3134	1,90	1,41	59,4	44,1	0,741	38,7—38,9	Vor der Eventeration: Blutzucker: um 10 ^h 35' 0,383 % ₀ . Urinzucker: 7 % ₀ . Schwache Fuß- bewegungen.
3	12 ^h 15'	6' 48"	3071	2,01	1,42	61,7	43,7	0,707	38,8	Blutzucker 12 ^h 23' (aus 10 ccm Blut) 0,635 % ₀ (?)
4	12 ^h 45'	6' 57"	3115	2,17	1,67	67,7	52,0	0,766	38,0—38,3	12 ^h 24' bis 1 ^h 4' 150 ccm 10 % ₀ ige Dextroseinfus.
5	1 ^h 04'	7' 09"	3123	2,24	1,58	70,0	49,0	0,70	38,4—38,6	
6	1 ^h 35'	6' 58"	3139	2,30	1,50	72,2	47,2	0,654	38,95—38,9	Spontane Bewegungen.
7	2 ^h 08'	10' 22"	3064	2,20	1,49	67,3	45,6	0,679	38,65—38,6	Schwache Bewegungen.
8	2 ^h 40'	9' 49"	3101	2,11	1,40	65,3	43,4	0,664	38,4—38,6	Blutzucker: 2 ^h 58' (aus 10 ccm Blut): 1,000 % ₀ .
9	3 ^h 43'	9' 11"	3113	1,77	1,26	55,1	39,2	0,709	38,45—38,4	

Stirbt erst nachmittags 5^h 20'. Leber stark verfettet. In der Bauch-
höhle kein Blut.

Tabelle XII.

Versuchsreihe 12.

Körpergewicht: 5500 g; vor der Pankreasexstirpation: 7100 g, nach der

Eventeration: 4700 g. Temp.: 38,4°. Datum: 6. III. 1914. Pankreasexstir-

pation: 26. II. 1914. Eventeration in Äthernarkose um 10^h 20'.

Nr.	Anfang	Dauer	Atemvolum pro Minute	O ₂ -Ab- nahme	CO ₂ -Zu- nahme	O ₂ -Ver- brauch	CO ₂ - Ausgabe	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Körpertempera- tur am Anfang u. Ende d. Versuchs ° C	Anmerkungen
				in der Ven- tilationaluft		pro Minute				
				ccm	%	%	ccm			
1	11 ^h 30'	9' 56"	2186	2,31	1,53	50,6	33,4	0,661	37,3	Vor der Eventeration: Blutzucker: 0,396‰. Urinzucker: 9,7‰.
2	11 ^h 46'	9' 53"	2207	2,38	1,56	52,5	34,4	0,656	37,3	
3	12 ^h 06'	9' 35"	2260	2,39	1,68	54,1	38,0	0,701	37,8—38,3	
4	12 ^h 30'	9' 24"	2248	2,22	1,66	49,8	37,2	0,747	38,4—38,6	Schwache Zuckungen.
5	1 ^h 05'	9' 12"	2258	2,74	1,91	61,8	43,2	0,698	37,8—38,2	Von 12 ^h 47' bis 1 ^h 27' Infusion von 120 ccm 10‰iger Dextrose.
6	1 ^h 27'	9' 01"	2273	2,71	1,84	61,6	41,8	0,677	38,7—38,5	
7	1 ^h 54'	9' 22"	2249	2,53	1,76	56,9	39,5	0,694	38,3—38,9	
8	2 ^h 28'	8' 55"	2261	2,27	1,64	51,3	37,1	0,723	38,3—38,1	Schwache Zuckungen.
9	3 ^h 03'	9' 21"	2288	2,27	1,66	52,0	38,0	0,731	38,5—38,6	

Stirbt um 4^h 25'.

Zur Kenntnis des Einflusses kalkarmer Nahrung auf die Zusammensetzung der wachsenden Knochen.

Von
Stephan Weiser.

(Aus der kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation zu Budapest.
[Vorstand: Franz Tangl.])

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Mit 3 Figuren im Text.

Der Einfluß des Kalkmangels macht sich bekanntlich je nach dem Entwicklungsstadium des Tieres in verschiedenem Maße geltend. Während der ausgewachsene Organismus mit sehr kleinen Kalkmengen auskommt, treten beim wachsenden Tier im Falle unzureichender Kalkzufuhr in der Entwicklung der Knochen schwere Störungen auf.

Der Einfluß einer kalkarmen Nahrung auf das Knochenwachstum und auf die Zusammensetzung der Knochen war der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Sie ergaben, daß die Knochen wachsender Tiere bei kalkarmem, aber sonst ausreichendem Futter mehr Wasser und weniger Mineralstoffe enthalten als normale Knochen, ebenso wie rachitische Knochen (H. Brubacher¹⁾). Auch die Zusammensetzung der Knochenasche ist verändert, doch nach H. Aron^{2, 3)} nur unwesentlich. In seinen mit R. Sebaauer gemeinschaftlich an Hunden ausgeführten Versuchen zeigte sich, daß der Kalkgehalt der Asche von Knochen kalkarm ernährter Tiere gegen die Norm nur unwesentlich verändert war.

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. 27, 517.

²⁾ Untersuchungen über d. Bedeutung d. Kalksalze f. d. wachsenden Organismus. Diese Zeitschr. 8, 1 bis 28.

³⁾ C. Oppenheimer, Handb. d. Biochemie d. Menschen u. d. Tiere 2, 2. Teil, 204.

Die Resultate einer von mir ¹⁾ an wachsenden Schweinen mit Mais, also mit einem Ca-armen, aber relativ Mg-reichen Futter ausgeführten Versuche bewiesen dann, daß zwischen Ca-, Mg- und P_2O_5 -Umsatz ein enger Zusammenhang besteht: bei ausschließlicher Maisfütterung verblieben die Tiere in einem starken Ca- und P_2O_5 -Defizit, wobei aber beträchtliche Mengen Mg angesetzt wurden. Wurde dem Mais kohlensaurer Kalk zugesetzt, so trat eine starke Retention von Kalk auf, wobei gleichzeitig das Phosphordefizit verschwand und die Ablagerung von Mg auf ein Minimum zurückging. Der Umstand, daß das ausgeschiedene Ca nur aus den Knochen stammen konnte und daß vom Organismus gleichgroße Mengen Mg zurückgehalten wurden, warf die Frage auf, wo und in welcher Form das Mg zurückgehalten wurde. Man konnte daran denken, daß das Mg als Ersatz des Calciums in den Knochen zurückgehalten wurde, daß also die Zusammensetzung der Knochenasche doch verändert ist.

Der Zweck der von Herrn Prof. F. Tangl angeregten Versuche, über die hier berichtet wird, war zu untersuchen, oblang fortgesetzte Fütterung von kalkarmem Futter tatsächlich keine Veränderung in der Zusammensetzung der Asche wachsender Knochen erzeugt.

1. Versuchseinrichtung.

Die Versuche stellte ich an wachsenden Schweinen an. Es wurden 6 junge Schweine gleicher Rasse und gleichen Alters verwendet, die so gewählt waren, daß je 3 das gleiche Gesamtgewicht besaßen. Drei Tiere (1, 2, 3) erhielten längere Zeit hindurch kalkreiches, drei kalkarmes (4, 5, 6) Futter. Letzteres bestand im ersten Teile der Versuche aus Mais und Kleber, später aus Mais und getrocknetem Blut. Wir vermischten 10 kg Mais mit 1 kg Kleber oder 1 kg getrocknetem Blut, setzten dem Gemisch, um es schmackhaft zu machen, 50 g Kochsalz zu und teilten es, nachdem es gehörig durchgemischt wurde, in zwei Hälften, deren eine ohne weiteren Zusatz blieb, die andere mit 80 g kohlensaurem Kalk versetzt wurde.

Der CaO- und MgO-Gehalt war in der Trockensubstanz des zweierlei Futters der folgende:

¹⁾ Diese Zeitschr. 44, 279, 1912.

	CaO	MgO
Kalkreiches Futter . .	0,448 ⁰ / ₀	0,205 ⁰ / ₀
Kalkarmes Futter . .	0,055 ⁰ / ₀	0,205 ⁰ / ₀

Die Fütterung der Tiere geschah in der Weise, daß man ihnen täglich dreimal einen Teil des Futters vorsetzte, von dem sie beliebige Mengen verzehren konnten. War das aus 11 kg bestehende Gemisch aufgezehrt, so wurde eine neue Mischung zubereitet. In dieser Weise wurden die Tiere vom 15. Januar bis zum 7. Juli 1913 gehalten. Ohne daß an ihnen vorher irgendetwas bemerkt worden wäre, verendeten plötzlich am 7. Juli von den kalkreich gehaltenen Tieren Nr. 2 und 3. Die Autopsie ergab als Todesursache Schweinepest, worauf die übriggebliebenen 4 Tiere mit einem Schweinepestserum geimpft wurden. Vergleichshalber wurde von den kalkarm ernährten Tieren am 10. Juli Nr. 5 durch Verbluten getötet. An den übriggebliebenen Tieren wurde der Versuch in der erwähnten Weise weitergeführt und wurde beim kalkreich gehaltenen Tiere am 27. September, bei den kalkarmen Tieren für Nr. 4 am 30. September und für Nr. 6 am 1. Oktober in der Weise beendet, daß die Tiere an den erwähnten Tagen gleichfalls durch Verbluten getötet wurden. Im Laufe des Versuches wurden die Tiere alle 8 Tage gewogen.

Die Verarbeitung und Untersuchung der Knochen habe ich in der folgenden Weise ausgeführt:

Zuerst wurde das Gewicht der von der Muskulatur sorgfältig gereinigten Knochen bestimmt und von diesen eine photographische Aufnahme gemacht. Die frischen Knochen verblieben dann 6 bis 8 Tage in einem auf 90 bis 95° erwärmten großen Trockenschrank. Nachdem sie wieder 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur gelegen waren, wurden sie neuerdings gewogen und mit einer starken, scharfen Knochenzange in haselnußgroße Stücke zerkleinert, wobei besonderes Gewicht darauf gelegt wurde, daß von den Knochen nichts verloren geht. Die zerkleinerten Knochen wurden dann in einen 2-Liter-Kolben gebracht und am Rückflußkühler mit Äther gut ausgekocht und der Trockenrückstand (Fett) der ätherischen Lösung gewogen. Die extrahierten und bei 95 bis 100° getrockneten Knochen blieben 48 Stunden wieder an der Luft und wurden dann zu einem feinen Mehl vermahlen, das zur weiteren Untersuchung, vor allem zur Bestimmung des noch übriggebliebenen Wasser- und Fettgehaltes diente. Auf diese Weise wurden die Knochen der 4 getöteten Tiere verarbeitet, während bei den 2 an Schweinepest verendeten Tieren das Gewicht der frischen Knochen nicht bestimmt wurde.

Die chemische Untersuchung erstreckte sich auf die Bestimmung des Trockensubstanz-, Fett- und Aschegehaltes der Knochen. Außerdem wurde die quantitative Zusammensetzung der Asche ermittelt.

Wasser- und Fettgehalt wurden auf die erwähnte Weise bestimmt. Der Mineralstoffgehalt wurde durch Veraschen des Knochenmehles im Muffelofen ermittelt. Die Aschenanalyse erstreckte sich auf die Bestimmung der Menge des Ca, Mg, Na, K, P, S und CO_2 .

Zur Bestimmung von Ca und Mg wurde die Asche in Salzsäure gelöst, die Lösung mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, mit Essigsäure angesäuert und das Ca in der zum Sieden erhitzten Lösung mit Ammonoxalat gefällt und als Calciumoxyd gewogen. Das Filtrat wurde eingeeengt, mit Ammoniak versetzt und das Magnesium mit phosphorsaurem Natrium gefällt. Das phosphorsaure Ammonium-Magnesium wurde 24 Stunden stehen gelassen, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, getrocknet und geglüht.

Zur Bestimmung der Alkalien wurden 2 bis 3 g Asche in der zur Lösung eben nötigen Menge Salzsäure gelöst, zur erwärmten Lösung zuerst Eisenchlorid, dann bis zur stark alkalischen Reaktion Ammoniak zugefügt. Auf diese Weise wurden Kalk, Magnesium, das zugesetzte Eisen und die Phosphorsäure entfernt. Der voluminöse Niederschlag wurde mit heißem Wasser gut ausgewaschen, das Filtrat eingeeengt, stehen gelassen und eventuell noch einmal filtriert; nachher wurde das klare Filtrat mit Schwefelsäure schwach angesäuert, eingedampft, die vorhandene Schwefelsäure vorsichtig abgetrieben und der Rückstand schwach geglüht. Da dieser durch Spuren von in Lösung gebliebenem Eisen oft schwach rot gefärbt war, wurde derselbe in heißem Wasser gelöst, vom Eisenoxyd abfiltriert und nach entsprechendem Auswaschen eingedampft, getrocknet und vorsichtig geglüht. Auf diese Weise wurden das K und Na als Sulfate gewogen und ihre Menge auf Grund des SO_4 -Gehaltes berechnet. Die Phosphorsäure der Asche wurde in deren salpetersauren Lösung mit Ammoniummolybdat gefällt, der Niederschlag in Ammoniak gelöst, neuerdings mit Magnesiamixtur gefällt und nach entsprechender Behandlung als Magnesiumpyrophosphat gewogen. Die Schwefelsäure wurde aus der Salzsäurelösung der Asche als Bariumsulfat gefällt. Den Kohlensäuregehalt der Asche bestimmte ich auf gravimetrischen Wege.

Auf Grund des Mineralstoffgehaltes der fettfreien Trockensubstanz und der Ergebnisse der Aschenanalyse konnte die Zusammensetzung der Knochen berechnet werden. Der Kohlensäuregehalt derselben mußte jedoch separat bestimmt werden, da sich dieser beim Glühen erheblich ändert. Zur Bestimmung der Kohlensäure wurden 3 bis 4 g Knochenmehl in einen mit einem kleinen Kühler versehenen Kohlensäurebestimmungsapparat gebracht, die Carbonate mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und die frei gewordene Kohlensäure, nach vollkommenem Trocknen, in einem Kaliapparat aufgefangen und gewogen. Da der größte Teil der Kohlensäure als Calciumcarbonat enthalten ist, wurde ihre Menge — auf fettfreie Trockensubstanz bezogen — auch als kohlensaurer Kalk berechnet.

3. Körpergewicht.

Wie schon erwähnt, wurden die 6 Versuchstiere in der Weise in 2 Gruppen geteilt, daß das Gesamtgewicht von je 3 Tieren beim Beginn des Versuches, am 15. Januar, das gleiche war. In den ersten 5 Monaten des Versuches, d. h. bis zum 15. Juni, verzehrten beide Gruppen die gleichen Futtermengen, nämlich je 120 kg Mais und 12 kg Kleber; die eine Gruppe außerdem 960 g kohlensauren Kalk. Trotz der gleichen Futteraufnahme nahmen die 2 Gruppen doch verschieden zu. Die Körpergewichtszunahme gestaltete sich von Beginn des Versuches bis zum 15. Juni folgendermaßen:

Datum	Mit Kalk ernährt	Ohne Kalk ernährt	Datum	Mit Kalk ernährt	Ohne Kalk ernährt
15. I.	17,70 kg	17,60 kg	2. IV.	27,00 kg	25,40 kg
22.	18,23 "	17,35 "	9.	27,10 "	26,18 "
29.	19,90 "	18,82 "	16.	29,00 "	26,85 "
6. II.	20,19 "	19,33 "	23.	30,00 "	28,72 "
13.	20,22 "	18,95 "	30.	31,90 "	29,06 "
20.	21,39 "	20,36 "	7. V.	32,95 "	30,70 "
27.	22,07 "	21,20 "	14.	33,50 "	31,76 "
8. III.	22,58 "	21,81 "	21.	31,15 "	33,01 "
12.	22,96 "	22,85 "	28.	36,28 "	33,95 "
19.	23,48 "	23,20 "	4. VI.	39,90 "	36,03 "
26.	23,78 "	23,40 "	11.	39,88 "	36,90 "
			15	41,83 "	36,84 "

Während also die mit kalkreicher Nahrung aufgezogenen 3 Tiere in 151 Tagen 24,13 kg ($= 135\%$) zunahmen, betrug die Gewichtszunahme bei den kalkarmen Tieren gleichzeitig 19,24 kg ($= 110\%$).

Vom 15. Juni anfangen, wurde zu 10 kg Mais statt 1 kg Klebermehl 1 kg Blutmehl zugesetzt. Beide Gruppen verzehrten ihr Futter gleichgut und nahmen davon bis zum 7. Juli gleichgroße Mengen auf. Der in der Gewichtszunahme vorher beobachtete Unterschied veranlaßte uns nunmehr, das Körpergewicht sämtlicher Versuchstiere auch einzeln zu bestimmen.

Das Gewicht der kalkreich ernährten Tiere:

Nr. des Tieres	Körpergewicht am		
	15. VI. kg	25. VI. kg	2. VII. kg
1	17,88	17,36	19,22
2	14,65	15,23	16,30
3	9,30	9,50	9,90
	41,83	42,09	45,42

Das Gewicht der kalkarmen Tiere war am 15. Juni, 25. Juni und 2. Juli das folgende:

Nr. des Tieres	Körpergewicht am		
	15. VI.	25. VI.	2. VII.
	kg	kg	kg
4	13,50	14,43	14,50
5	13,50	13,32	13,50
6	9,84	10,20	10,16
	36,84	37,95	38,16

Von den kalkreich ernährten Tieren verendeten am 7. Juli Nr. 2 und 3; gleichzeitig wurde von den kalkarmen Tieren Nr. 5 getötet. Die drei übriggebliebenen Tiere wurden vom 7. Juli bis zum Schlusse des Versuches jede Woche gewogen:

Datum	Kalkreich gehaltenes Tier	Kalkarm gehaltene Tiere		
	Nr. 1	Nr. 4	Nr. 6	Zusammen
	kg	kg	kg	
7. VII.	19,6	14,50	9,90	24,40
16.	20,0	15,60	10,60	26,20
23.	21,3	15,80	11,10	29,90
30.	23,9	15,70	11,40	27,50
6. VIII.	25,5	16,00	11,50	27,50
13.	26,2	15,32	11,50	26,82
20.	28,8	15,26	11,20	26,46
27.	29,6	14,15	11,14	25,29
3. IX.	35,1	13,62	11,00	24,62
10.	34,2	13,00	11,80	24,80
17.	34,8	12,50	11,70	24,30
24.	35,7	12,60	11,12	23,72
1. X.	—	—	11,20	—

Die Weiterführung des Versuches brachte also eine Verschärfung des schon vorher beobachteten Unterschiedes in der Gewichtszunahme der zwei Gruppen. Wir sehen, daß, während das Körpergewicht des kalkreichen Tieres bis zum Ende des Versuches fortwährend zunahm, bei den kalkarmen Tieren eine Stagnation, bei Tier Nr. 1 sogar eine Abnahme des Körpergewichtes eintrat.

Leider unterließen wir es, während der Sommermonate die Menge des verzehrten Futters zu bestimmen, so daß Gewichtszunahme und die Menge des aufgenommenen Futters nicht ver-

glichen werden können. Gewiß ist nur, daß die Freßlust der kalkarmen Tiere immer mehr abnahm und daß sie gegen das Ende des Versuches weniger Futter aufnahmen als zu Beginn des Versuches.

Die Bestimmung des Körpergewichtes zeigte also, daß anfangs das Wachstum durch den Kalkmangel nur wenig geschädigt wurde.

Doch übt der Kalkmangel auf das Wachstum der Tiere schon nach mehreren Wochen einen Einfluß aus: die kalkarmen Tiere nahmen beim gleichen Futterverzehr um 25% weniger zu als die kalkreichen Tiere. Dasselbe ist auch aus den Versuchen von H. Aron und R. Sebauer¹⁾ ersichtlich. Vier junge Hunde, von denen zwei kalkarm und zwei kalkreich gefüttert wurden, nahmen während eines 50tägigen Versuches folgendermaßen zu:

Dauer der Periode	Körpergewicht am Ende der Periode				Änderung d. Körpergewichtes während der Periode			
	Kalkarm		Kalkreich		Kalkarm		Kalkreich	
	I g	II g	III g	IV g	I g	II g	III g	IV g
1. Tag	2200	2000	1815	1920				
1.—10. "	2900	2670	2200	2400	+ 700	+ 670	+ 385	+ 480
11.—20. "	3300	3040	2400	2300	+ 400	+ 370	+ 200	— 100
21.—30. "	3900	3470	3100	3090	+ 600	+ 430	+ 700	+ 790
31.—40. "	4550	3450	3850	3900	+ 650	— 20	+ 750	+ 810
41.—50. "	4400	3870	4250	4620	— 150	+ 420	+ 400	+ 720
Ges.-Gewichts- zunahme . .	2200	1870	2435	2700				

Während der 50tägigen Versuchsdauer verzehrte Hund I 22,95 kg, Hund II 19,46 kg, Hund III 22,05 kg, Hund IV 20,41 kg Futter.

Die Gewichtszunahme des kalkarmen Tieres Nr. 1 betrug 100%, von Tier Nr. 2 93,5%, bei den kalkreichen Tieren für Nr. 3 134%, für Nr. 4 140%. Der Einfluß der kalkarmen Nahrung ist anfangs geringer und wird nur dann größer, wenn die Kalkentziehung eine zu weitgehende ist. Dies ist auch aus den Versuchen von E. Voit²⁾ ersichtlich.

¹⁾ Diese Zeitschr. 8, 1 bis 28.

²⁾ Zeitschr. f. Biol. 16, 79, 1880.

Einer seiner Versuchshunde, der als Nahrung Fleisch, Speck und destilliertes Wasser erhielt, änderte sein Körpergewicht während eines 162 Tage langen Versuches folgendermaßen:

Dauer der Periode	Körper- gewicht am Ende der Periode g	Nahrungsmenge während der Periode		Änderung des Körper- gewichts für den Tag g
		Fleisch g	Speck g	
1. Tag	1560	—	—	—
1.—16. "	2091	2432	608	+ 32
17.—32. "	2289	1643	411	+ 12
33.—48. "	2643	2100	475	+ 22
49.—64. "	2971	2100	525	+ 23
65.—80. "	3011	2000	500	+ 3
81.—96. "	2996	2100	525	— 1
97.—112. "	3075	1900	475	+ 6
113.—128. "	3097	1700	425	+ 2
129.—144. "	3093	1800	425	+ 0
145.—162. "	2800	1800	450	— 21

Wie ersichtlich, hat das Tier in der ersten Hälfte des Versuches beträchtlich zugenommen und sein Körpergewicht in 80 Tagen fast verdoppelt. Dann stellte sich aber verminderte Freßlust ein und das Körpergewicht änderte sich in den weiteren 80 Tagen nur sehr wenig.

Auf Grund der angeführten Versuche kann also behauptet werden, daß der Kalkmangel das Gesamtwachstum der Tiere anfangs in geringerem Maße beeinträchtigt; wird aber die Kalkentziehung eine zu weitgehende, so verschärft sich der Einfluß in der Weise, daß die kalkarmen Tiere überhaupt nicht mehr zunehmen, ja sogar abnehmen.

4. Aussehen, Gewicht, Wasser- und Fettgehalt der Knochen.

Das Aussehen und die übrigen physikalischen Eigenschaften der kalkarmen und kalkreichen Knochen waren sehr verschieden. Die kalkarmen Knochen waren dünner, deformiert (siehe Figuren 1 bis 3), biegsam, zerbrechlich und mit dem Messer wie Holz schneidbar.

Das Gewicht der frischen Knochen, ihr Fettgehalt und die Menge der fettfreien Trockensubstanz waren für ein kalkreiches und für die drei kalkarmen Tiere die folgenden:

	Kalkreiches Tier Nr. 1			Kalkarmes Tier Nr. 4		
	Frische Knochen	Fett	Fettfreie Trockensubstanz	Frische Knochen	Fett	Fettfreie Trockensubstanz
	g	g	g	g	g	g
Schädel	581,9	69,0	297,2	354,7	26,8	134,6
Wirbelsäule . .	631,2	93,4	283,9	321,3	54,9	105,8
Rippen	216,6	20,9	103,0	185,5	20,7	70,0
Vordere Extremitäten . . .	649,1	103,9	283,7	369,7	61,0	129,7
Hintere Extremitäten . . .	596,0	145,9	229,7	381,0	59,2	151,8
Zusammen	2674,8	433,1	1197,5	1612,2	222,6	591,9

	Kalkarmes Tier Nr. 5			Kalkarmes Tier Nr. 6		
	Frische Knochen	Fett	Fettfreie Trockensubstanz	Frische Knochen	Fett	Fettfreie Trockensubstanz
	g	g	g	g	g	g
Schädel	336,2	27,2	117,3	300,8	21,2	110,0
Wirbelsäule . .	316,6	52,8	100,7	284,2	35,6	96,2
Rippen	203,8	21,3	66,0	171,9	14,5	58,6
Vordere Extremitäten . . .	349,6	45,0	115,5	297,3	43,1	106,2
Hintere Extremitäten . . .	297,7	56,5	105,7	265,8	51,6	94,6
Zusammen	1503,9	202,8	505,2	1320,0	166,0	466,6

Das Körpergewicht der Tiere war nach dem Verbluten samt dem aufgefangenen Blute des kalkreichen Tieres Nr. 1: 33,42 kg, der kalkarmen Tiere Nr. 4: 11,24 kg, Nr. 5: 13,42 kg, Nr. 6: 10,82 kg. Da der verschieden große Inhalt des Verdauungstraktes einen Fehler beim Vergleich der Körpergewichte verursacht, wurde der ganze uneröffnete Verdauungstrakt entfernt und gewogen. Nach Abzug seines Gewichtes wogen das kalkreiche Tier Nr. 1: 30,58 kg, die kalkarmen Tiere Nr. 4: 9,66 kg, Nr. 5: 11,90 kg, Nr. 6: 9,74 kg.

Auf Grund dieser und der obigen Daten läßt sich berechnen, wieviel Prozent vom Gewicht des vom Verdauungstrakte befreiten Körpers auf die frische Knochen- und auf die fettfreie Trockensubstanz entfielen. Diese Daten sind für:

	Frische Knochen	Trockensubstanz
	0/0	0/0
das kalkreiche Tier Nr. 1 . . .	8,74	3,91
„ kalkarme „ „ 4 . . .	16,68	6,12
„ „ „ „ 5 . . .	12,63	4,24
„ „ „ „ 6 . . .	13,55	4,79
	Mittel: 14,29 0/0	Mittel: 5,05 0/0

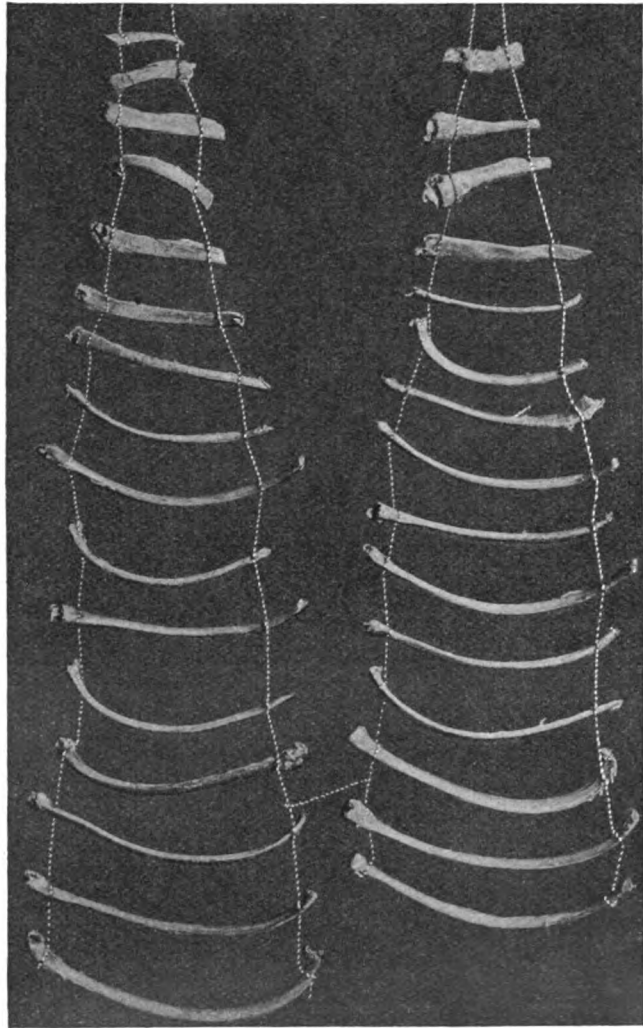


Fig. 1. Rippen des kalkreichen Tieres Nr. 1.

Das Gewicht der Knochen macht also bei den kalkarmen Tieren sowohl im frischen als auch im trockenen Zustande einen größeren Teil des Körpergewichtes aus als bei einem kalkreichen Tiere.

Der Wassergehalt der einzelnen Knochen und des ganzen Skelettes war:

	Kalkreich ernährtes Tier	Kalkarm ernährte Tiere		
	Nr. 1 ‰	Nr. 4 ‰	Nr. 5 ‰	Nr. 6 ‰
Schädel	42,06	48,95	62,04	60,31
Wirbelsäule	47,22	60,29	61,83	61,32
Rippen	47,37	57,53	63,84	62,77
Vordere Extremitäten	47,97	58,00	62,08	58,22
Hintere Extremitäten	48,97	52,83	56,18	55,84
Ganzes Skelett	46,59	57,41	61,16	59,57

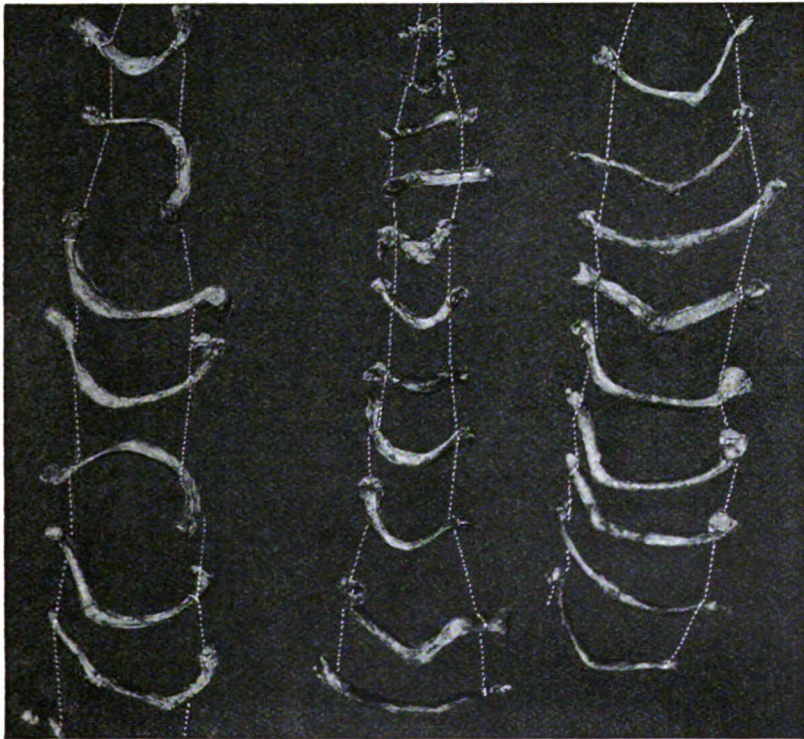


Fig. 2. Rippen des kalkarmen Tieres Nr. 5.

Unter dem Einfluß der kalkarmen Nahrung entwickelten sich also an Wasser reichere Knochen. Dasselbe fanden H. Aron und R. Sebauer¹⁾ an jungen Hunden.

¹⁾ l. c.



a *b* *b* *a*
a: Schulterblätter des kalkreichen Tieres Nr. 1.
b: " " " " " 5.

Der Wassergehalt der Knochen war in ihren Versuchen der folgende:

	Kalkarm ernährter Hund	Kalkreich
	$\%$	$\%$
Femur	62,77	44,16
Tibia	61,55	41,89
Fibula	62,50	45,79
Humerus	64,78	44,79
Ulna	61,99	42,19
Radius	62,50	41,04
Scapula	73,48	59,20
Atlas	58,26	39,98
Epistropheus	60,90	42,57

Von Interesse war es auch, den Fettgehalt der zweierlei Knochen zu berechnen. Dieser war für die Trockensubstanz der einzelnen Knochen und des ganzen Skelettes der folgende:

	Kalkreiches Tier	Kalkarme Tiere		
	Nr. 1	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6
	$\%$	$\%$	$\%$	$\%$
Schädel	18,84	16,60	18,70	16,03
Wirbelsäule	24,75	34,16	34,40	27,01
Rippen	16,86	22,85	24,39	19,83
Vordere Extremitäten	26,81	31,98	28,03	28,86
Hintere "	38,84	28,06	34,83	35,29
Ganzes Skelett . . .	26,56	27,32	28,64	26,27

Das kalkreiche Tier war dasjenige, an dem der Versuch die längste Zeit dauerte und dessen Körpergewicht von 6 kg auf 34,77 kg anstieg. Trotz des bedeutenden Unterschiedes in der Körpergewichtszunahme sehen wir, daß die Knochen der kalkarmen Tiere an Fett ebenso reich waren als die des kalkreichen Tieses.

5. Aschegehalt und Zusammensetzung der Asche.

	Aschengehalt der Knochen							
	Kalkreich ernährte Tiere				Kalkarm ernährte Tiere			
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Mittel	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Mittel
	%	%	%	%	%	%	%	%
Schädel . .	60,02	60,35	58,19	59,62	56,83	47,02	55,50	58,11
Wirbelsäule	40,65	39,88	41,03	40,52	35,22	25,18	31,18	30,52
Rippen . .	43,94	50,07	45,97	46,66	28,08	21,57	27,73	25,80
Vordere Extremitäten	46,95	47,13	46,97	47,01	37,44	27,23	36,12	33,60
Hintere Extremitäten	46,76	47,36	44,68	46,26	28,25	30,27	40,52	33,00

Das aus den Mittelwerten berechnete Verhältnis zwischen anorganischer und organischer Substanz (anorg. Subst.: org. Subst.) war für die kalkarmen und kalkreichen Knochen das folgende:

	Kalkreiche Tiere	Kalkarme Tiere
Schädel	1,476	1,387
Wirbelsäule	0,681	0,439
Rippen	0,875	0,347
Vordere Extremitäten . .	0,887	0,506
Hintere "	0,861	0,490

Diese Zahlen beweisen, daß beim Kalkmangel auch relativ die Schädelknochen am wenigsten, die Wirbelsäule und die Rippen am meisten an Asche einbüßen.

Aus der Menge der fettfreien Trockensubstanz und des Mineralstoffgehaltes ließ sich die prozentische Menge der Asche für das ganze Skelett berechnen. Der Mineralstoffgehalt der fettfreien Trockensubstanz des ganzen Skelettes war

für das kalkreiche Tier Nr. 1 . . .	48,40 ⁰ / ₀
" " kalkarme " " 4 . . .	40,03 ⁰ / ₀
" " " " 5 . . .	31,31 ⁰ / ₀
" " " " 6 . . .	39,56 ⁰ / ₀

Der Unterschied im Aschegehalt des ganzen Skelettes ist nicht so wesentlich wie bei den einzelnen Knochen. Dies kommt daher, weil der größte Teil des Mineralstoffgehaltes vom Skelett in den Schädelknochen enthalten ist und im Aschegehalt derselben bei den zweierlei Tieren der Unterschied am geringsten war.

Der Aschegehalt des Skelettes war in den verschiedenen Knochen folgendermaßen verteilt:

	Kalkreiches Tier	Kalkarme Tiere		
	Nr. 1 %	Nr. 4 %	Nr. 5 %	Nr. 6 %
Schädel	30,77	37,39	34,86	33,42
Wirbelsäule	19,91	15,73	16,03	16,25
Rippen	7,81	8,29	9,00	8,80
Vordere Extremitäten	22,98	20,49	19,88	20,77
Hintere "	18,53	18,10	20,23	20,76
Zusammen	100,00	100,00	100,00	100,00

Die Zusammensetzung der Asche wurde in der in der Versuchseinrichtung beschriebenen Weise ermittelt. Schon beim Vergleiche des CaO -, MgO -, P_2O_5 -, SO_3 - und CO_2 -Gehaltes der zweierlei Knochen zeigte sich ein wesentlicher Unterschied, während die Summe der erwähnten Bestandteile bei den kalkreichen Knochen ca. 100% ausmachte, war ihre Summe für die kalkarmen Knochen wesentlich geringer.

Die weitere Untersuchung der Knochenasche ergab bei den kalkarmen Knochen beträchtliche Mengen von Alkalien. In 2 bis 3 Fällen suchte ich nach solchen auch in der Asche der kalkreichen Tiere, fand aber nur so geringe Mengen, daß deren Bestimmung um so eher unterlassen werden konnte, als ja, wie schon bemerkt, die Summe von CaO , MgO , P_2O_5 , SO_3 und CO_2 innerhalb der analytischen Fehlergrenzen etwas mehr oder weniger als 100% ausmachte.

Die Zusammensetzung der Asche der zweierlei Knochen enthält Tabelle I. Der leichteren Übersicht halber seien die Mittelwerte für die Asche der einzelnen Knochen anschließend noch einmal angeführt.

Tabelle I.
Zusammensetzung der Knochenasche.

Kalkreich ernährte Tiere							Kalkarm ernährte Tiere								
	CaO	MgO	P ₂ O ₅	SO ₃	CO ₂	Zus.		CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	P ₂ O ₅	SO ₃	CO ₂	Zus.
Schädel.							Schädel.								
1.	55,21	1,13	41,72	0,78	1,90	100,74	4.	52,81	1,93	2,51	0,45	41,64	0,61	0,20	100,15
2.	54,78	1,01	42,32	0,56	1,43	100,10	5.	51,18	1,84	4,22	0,18	40,37	0,37	0,62	98,78
3.	53,95	1,39	43,01	0,70	0,78	99,83	6.	52,42	2,20	2,64	0,47	41,68	0,58	0,52	100,51
Mittelwert	54,64	1,18	42,35	0,68	1,37	100,22	Mittelwert	52,14	1,99	3,12	0,37	41,23	0,52	0,45	99,82
Rippen.							Rippen.								
1.	54,05	1,00	39,85	1,40	1,80	98,10	4.	49,42	0,61	6,26	1,08	38,66	2,01	1,16	99,20
2.	55,39	0,48	41,58	0,75	1,83	100,03	5.	47,52	1,55	6,69	1,53	39,75	1,53	0,68	99,25
3.	55,76	1,18	42,22	0,93	0,51	100,60	6.	49,28	1,62	4,07	0,58	38,88	2,50	1,33	98,26
Mittelwert	55,07	0,89	41,22	1,03	1,38	99,59	Mittelwert	48,74	1,26	5,66	1,06	39,10	2,01	1,06	98,89
Wirbelsäule.							Wirbelsäule.								
1.	54,15	1,03	40,77	1,30	2,38	99,63	4.	50,21	1,30	5,32	0,38	39,52	2,25	1,12	100,10
2.	54,27	0,59	42,41	1,83	0,76	99,86	5.	47,53	1,36	5,73	2,14	38,95	1,47	1,14	98,32
3.	53,90	1,64	42,92	1,71	1,35	101,72	6.	49,95	2,29	3,64	1,29	40,52	0,98	1,66	100,33
Mittelwert	54,11	1,09	42,03	1,62	1,49	100,34	Mittelwert	49,23	1,65	4,90	1,27	39,66	1,56	1,31	99,58
Vordere Extremitäten.							Vordere Extremitäten.								
1.	53,69	1,26	40,19	1,17	1,78	98,10	4.	50,41	0,39	3,55	1,11	38,57	0,95	4,72	99,70
2.	54,41	1,22	41,58	1,86	1,47	100,54	5.	49,71	1,40	5,11	1,33	38,69	1,01	1,58	98,83
3.	55,29	1,08	41,36	1,25	0,85	99,83	6.	50,94	1,39	4,00	0,70	38,98	1,26	—	97,27 ¹⁾
Mittelwert	54,46	1,19	41,04	1,42	1,36	99,47	Mittelwert	50,35	1,06	4,22	1,05	38,75	1,07	3,15	99,25
Hintere Extremitäten.							Hintere Extremitäten.								
1.	54,51	0,96	40,23	1,07	1,31	98,08	4.	50,50	1,02	4,69	0,40	38,38	1,30	4,35	100,64
2.	55,21	1,43	40,79	2,29	1,66	101,38	5.	50,80	1,20	3,86	0,50	38,86	1,44	0,87	98,53
3.	54,35	1,57	41,55	1,01	0,79	99,27	6.	52,92	1,56	3,96	0,17	38,66	0,96	—	98,23 ¹⁾
Mittelwert	54,69	1,32	40,86	1,45	1,25	99,57	Mittelwert	51,40	1,26	4,17	0,35	38,97	1,23	2,01	99,99

	Schädelknochen		Rippen		Wirbelsäule	
	kalkreich	kalkarm	kalkreich	kalkarm	kalkreich	kalkarm
	%	%	%	%	%	%
CaO . .	54,64	52,14	55,07	48,74	54,11	49,23
MgO . .	1,18	1,99	0,89	1,26	1,09	1,65
Na ₂ O . .	—	3,12	—	5,66	—	4,90
K ₂ O . .	—	0,37	—	1,06	—	1,27
P ₂ O ₅ . .	42,35	41,23	41,22	39,10	42,03	39,66
SO ₃ . .	0,68	0,52	1,03	2,01	1,62	1,56
CO ₂ . .	1,37	0,45	1,38	1,06	1,49	1,31
Summe	100,22	98,82	99,59	98,89	100,34	99,58

¹⁾ Ohne CO₂.

	Vordere Extremitäten		Hintere Extremitäten	
	kalkreich o/o	kalkarm o/o	kalkreich o/o	kalkarm o/o
CaO	54,46	50,35	54,69	51,40
MgO	1,19	1,06	1,32	1,26
Na ₂ O	—	4,22	—	4,17
K ₂ O	—	1,05	—	0,35
P ₂ O ₅	41,04	38,75	40,86	38,97
SO ₃	1,42	1,07	1,45	1,23
CO ₂	1,36	3,15	1,25	2,61
Summe	99,47	99,25	99,57	99,99

Die zweierlei Knochenasche zeigt also eine verschiedene Zusammensetzung, indem die der kalkarmen Tiere nennenswerte Mengen von Alkalien enthält. Die Menge des Na₂O + K₂O betrug für

die Asche des Schädels	3,49 ^{o/o}
" " der Rippen	6,72 ^{o/o}
" " " Wirbelsäule	6,17 ^{o/o}
" " " vorderen Extremitäten	5,27 ^{o/o}
" " " hinteren "	4,52 ^{o/o}

Die Knochenasche kalkarmer Tiere zeigt dieselbe Zusammensetzung wie die Asche rachitischer Kinderknochen.

H. Brubacher¹⁾ bestimmte den CaO-, MgO- und P₂O₅-Gehalt eines 8 Monate alten rachitischen Kindes und eines 7 Monate alten normalen Kindes. Die Summe dieser Bestandteile war für die zweierlei Asche die folgende:

	Rachitisches Kind o/o	Normales Kind o/o	Weniger in den rachitischen Knochen o/o
Kopfknochen	89,99	92,36	— 2,37
Rippen und Wirbelsäule	84,94	87,57	— 2,63
Obere Extremitäten	84,66	89,59	— 4,93
Untere "	77,72	87,37	— 9,65
Ganzes Skelett	85,81	89,74	— 3,93

In den Versuchen von H. Aron und R. Sebauer²⁾ war der Kalkgehalt der Knochen kalkarm gefütterter Hunde vermindert. Ihre Werte sind:

¹⁾ Über den Gehalt an anorganischen Stoffen, besonders an Kalk, in den Knochenorganen normaler und rachitischer Kinder. Zeitschr. f. Biol. 27, 517 bis 549.

²⁾ l. c.

	CaO in der Asche	
	Asche der Fibula	Mischasche
kalkarm	50,40 ⁰ / ₀	49,78 ⁰ / ₀
kalkreich	53,40 ⁰ / ₀	52,29 ⁰ / ₀

Desgleichen fand H. Brubacher¹⁾ in der Knochenasche rachitischer Kinder weniger CaO:

	Normale Knochen ⁰ / ₀	Rachitische Knochen ⁰ / ₀	Weniger in den rachit. Knochen ⁰ / ₀
Kopfknochen	50,16	47,72	— 2,44
Rippen und Wirbelsäule	46,15	43,86	— 2,29
Obere Extremität	47,57	43,45	— 4,12
Untere „	46,71	39,55	— 7,16
Ganzes Skelett	48,09	44,72	— 3,37

Auch in meinen Versuchen enthielt die Knochenasche der kalkarmen Tiere durchweg weniger CaO als die der kalkreichen Tiere. Der Unterschied betrug im Mittel

für die Schädelknochen	2,50 ⁰ / ₀
„ „ Wirbelsäule	4,88 ⁰ / ₀
„ „ Rippen	6,33 ⁰ / ₀
„ „ vorderen Extremitäten	4,11 ⁰ / ₀
„ „ hinteren „	3,29 ⁰ / ₀

Viel geringer ist der Unterschied bei der Phosphorsäure, wie dies H. Brubacher¹⁾ auch bei rachitischen Knochen fand.

Der Mindergehalt an P₂O₅ betrug in meinen Versuchen bei den kalkarmen Tieren für die Asche

der Schädelknochen	1,22 ⁰ / ₀
„ Wirbelsäule	2,37 ⁰ / ₀
„ Rippen	2,12 ⁰ / ₀
„ vorderen Extremitäten	2,29 ⁰ / ₀
„ hinteren „	1,89 ⁰ / ₀

Auch im MgO-Gehalt ist ein Unterschied, dem ich aber keine besondere Bedeutung zugestehen möchte:

	MgO in der Knochenasche		
	der kalkreichen Tiere ⁰ / ₀	der kalkarmen Tiere ⁰ / ₀	Unterschied ⁰ / ₀
Schädel	1,18	1,99	+ 0,81
Rippen	0,89	1,26	+ 0,37
Wirbelsäule	1,09	1,65	+ 0,56
Vordere Extremitäten	1,19	1,06	— 0,13
Hintere „	1,32	1,26	— 0,06

¹⁾ l. c.

Während die Asche von Schädel, Rippen und Wirbelsäule der kalkarmen Tiere etwas mehr MgO enthält als die Asche derselben Knochen der kalkreich gehaltenen Tiere, ist der MgO-Gehalt in der Asche der vorderen und hinteren Gliedmaßen innerhalb der analytischen Fehlergrenzen gleich.

Tabelle II.

Zusammensetzung der fettfreien Knochentrockensubstanz.

Kalkreich ernährte Tiere						Kalkarm ernährte Tiere							
	CaO	MgO	P ₂ O ₅	SO ₃	CO ₂		CaO	MgO	Na ₂ O	K ₂ O	P ₂ O ₅	SO ₃	CO ₂
Schädel.						Schädel.							
1.	33,14	0,67	25,04	0,47	4,32	4.	30,01	1,10	1,42	0,26	23,66	0,35	2,90
2.	33,06	0,61	26,14	0,34	4,12	5.	24,06	0,86	1,98	0,08	18,98	0,17	1,56
3.	31,39	0,81	25,03	0,41	4,11	6.	29,09	1,22	1,46	0,26	23,13	0,32	3,13
Mittelwert:	32,53	0,70	25,40	0,40	4,18	Mittelwert:	27,72	1,06	1,62	0,20	21,92	0,28	2,53
Rippen.						Rippen.							
1.	23,75	0,44	17,51	0,61	5,21	4.	13,88	0,17	1,76	0,30	10,86	0,56	1,82
2.	27,73	0,24	20,82	0,37	4,55	5.	10,26	0,33	1,44	0,33	8,58	0,33	2,41
3.	25,63	0,54	19,41	0,43	6,69	6.	13,66	0,45	1,13	0,16	10,78	0,69	3,40
Mittelwert:	25,70	0,40	19,24	0,47	5,48	Mittelwert:	12,60	0,32	1,44	0,26	10,07	0,53	2,54
Wirbelsäule.						Wirbelsäule.							
1.	22,01	0,42	16,57	0,58	3,67	4.	17,68	0,46	1,87	0,10	13,92	0,79	1,81
2.	21,64	0,24	16,91	0,73	4,13	5.	11,97	0,34	1,44	0,54	9,81	0,37	1,24
3.	22,11	0,67	17,61	0,70	4,14	6.	15,57	0,71	1,13	0,40	12,63	0,30	1,56
Mittelwert:	21,92	0,44	17,03	0,65	3,98	Mittelwert:	15,07	0,50	1,48	0,32	12,12	0,49	1,54
Vordere Extremitäten.						Vordere Extremitäten.							
1.	25,21	0,59	18,87	0,55	5,82	4.	18,87	0,15	1,33	0,42	14,44	0,36	2,31
2.	25,64	0,57	19,60	0,88	4,24	5.	13,54	0,38	1,39	0,36	10,54	0,28	3,23
3.	25,97	0,51	19,43	0,59	4,00	6.	18,40	0,50	1,44	0,25	14,08	0,46	2,98
Mittelwert:	25,61	0,56	19,30	0,67	4,69	Mittelwert:	16,94	0,34	1,39	0,34	13,02	0,36	2,84
Hintere Extremitäten.						Hintere Extremitäten.							
1.	25,49	0,45	18,81	0,50	5,43	4.	14,25	0,29	1,32	0,11	10,83	0,37	2,22
2.	26,14	0,68	19,32	1,08	4,25	5.	15,38	0,36	1,17	0,15	12,06	0,44	2,95
3.	24,28	0,70	18,56	0,45	2,90	6.	21,44	0,63	1,60	0,07	15,67	0,39	3,54
Mittelwert:	25,30	0,61	18,90	0,68	4,19	Mittelwert:	17,02	0,43	1,36	0,11	12,85	0,40	2,90

Es wird demnach bei ausschließlicher Fütterung von Mais das, nach meinen früheren¹⁾, an wachsenden Schweinen ausgeführten Versuchen, zurückgehaltene Mg nicht an Stelle des ausgeschiedenen Ca in den Knochen abgelagert; es wird nur ein geringer Teil des zurückgehaltenen Mg in den Knochen angesetzt.

¹⁾ Diese Zeitschr. 44, 279.

6. Zusammensetzung der Knochen.

Schließlich habe ich das Verhältnis der Aschenbestandteile zur Knochentrockensubstanz berechnet. Mit Rücksicht auf den wechselnden Wasser- und Fettgehalt wurden die Werte auf die fettfreie Knochentrockensubstanz bezogen. Die diesbezüglichen Daten enthält Tabelle II. (Kohlensäuregehalt wurde nicht in der Asche, sondern, wie schon bemerkt, direkt in den getrockneten und gepulverten Knochen bestimmt.)

In der Zusammensetzung der fettfreien Trockensubstanz der Knochen spiegelt sich der Einfluß der kalkarmen Ernährung in derselben Weise wie in der Zusammensetzung der Asche wieder.

Besonderes Interesse beansprucht der Gehalt an CO_2 und CaO . Die Mittelwerte sämtlicher CO_2 -Bestimmungen ergaben:

	für die kalkreichen Knochen		für die kalkarmen Knochen	
	CO_2 %	CaO %	CO_2 %	CaO %
Schädel	4,18	9,51	2,53	5,75
Rippen	5,48	12,46	2,54	5,78
Wirbelsäule	3,98	9,05	1,54	3,50
Vordere Extremitäten .	4,69	10,67	2,84	6,46
Hintere " .	4,00	9,10	2,90	6,60

Wie nach den vorstehenden Ergebnissen zu erwarten war, enthalten die unter dem Einfluß kalkarmer Nahrung erzeugten Knochen nicht nur weniger phosphorsauren Kalk, sondern im Verhältnis auch bedeutend weniger kohlensauren Kalk als die normalen Knochen.

Überblicken wir diese Versuche, so läßt sich ihr Ergebnis in folgendem zusammenfassen:

Der Einfluß einer länger anhaltenden kalkarmen Ernährung beeinflusst das Wachstum und Körpergewicht in der Weise, daß die Tiere schon in der ersten Zeit um ca. 20% weniger zunehmen als die kalkreich ernährten Kontrolltiere. War die Kalkentziehung durch die längere Weiterführung des Versuches eine weitgehende, so nimmt die Freßlust der Tiere und damit die Körpergewichtszunahme in verschärftem Maße ab; die Zunahme der Tiere kann nicht nur aufhören, sondern es kann ihr Körpergewicht wieder abnehmen.

Die Knochen der kalkarmen Tiere sind ihrem Aussehen und ihren übrigen physikalischen Eigenschaften nach von den kalkreichen Knochen sehr verschieden. Sie sind dünner, deformiert, biegsam, zerbrechlich und mit dem Messer leicht schneidbar.

Das Wachstum und Gewicht des Skelettes ist bei kalkarmer Ernährung kein geringeres als bei kalkreicher. Vom Körpergewicht der kalkarmen Tiere entfiel ein größerer Prozentsatz auf das Gewicht der frischen Knochen und der Trockensubstanz bei den kalkarmen Tieren (14,29 bzw. 5,05%) als bei den kalkreichen (8,74 bzw. 3,91%). Während die kalkarmen Knochen an Wasser bedeutend reicher waren als die kalkreichen, war ihr Gehalt an Fett fast ganz gleich.

Der Aschegehalt der kalkarmen Knochen war ein bedeutend geringerer als der der kalkreichen. Am geringsten war der Unterschied bei den Schädelknochen, am größten bei den Rippen. Bei den kalkarmen Tieren entfiel vom Gesamtaschegehalt des Skelettes auf den Schädel ein größerer Teil als beim kalkreichen Tier.

Die Knochenasche der kalkarmen Tiere ist an CaO wesentlich ärmer als die Asche der kalkreichen Knochen. Ein geringerer Unterschied ähnlicher Richtung zeigte sich im P_2O_5 -Gehalt.

Der wesentlichste Unterschied zwischen der Zusammensetzung der Knochenasche kalkarmer und kalkreicher Tiere besteht darin, daß die erstere ansehnliche Mengen von Alkalien enthält, und zwar bedeutend mehr Na_2O als K_2O .

Die Veränderung der Asche ist nicht bei allen Knochen gleich: die geringste findet sich bei den Schädelknochen, die größte bei den Rippen und der Wirbelsäule.

Enthält der normale Harn freies Glycerin?

Von

Milan Farkas (Agram).

(Aus der kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation in Budapest.
[Direktor: F. Tangl.])

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Frage, ob das Glycerin im Organismus bzw. dessen Säften auch in freiem Zustande vorkommt, wurde öfters aufgeworfen, aber erst vor nicht langer Zeit teilweise beantwortet. Der Grund, weshalb man auf diese Frage so lange keine einwandfreie Antwort geben konnte, ist vor allem in dem Umstande zu suchen, daß keine Methode existierte, die kleine Glycerinmengen quantitativ nachzuweisen gestattete. Erst als das schnelle und exakte Verfahren von Zeisel und Fanto¹⁾ ermöglichte, all diesen Anforderungen nachzukommen, und das Glycerin auch in Lösungen, in denen es in minimalen Mengen vorhanden ist, quantitativ nachzuweisen war, wendete man sich dieser wichtigen Frage von neuem zu.

Tangl und Weiser²⁾ ermittelten nach diesem Verfahren den Glyceringehalt des Blutes. Ihre Resultate stimmen mit den Versuchsergebnissen anderer Autoren recht gut überein. Auch beim Harn wurde diese Methode angewendet, doch herrscht in diesem Falle noch große Ungewißheit. Wir wollen an dieser Stelle nicht die vielen Arbeiten erwähnen, die die Ermittlung des Glyceringehaltes des Harnes — auch nach anderen Verfahren — behandeln. Genaue Zusammenstellungen derselben und Angaben darüber findet man in den verschiedenen

¹⁾ Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich 5, 729, 1902.

²⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 152 bis 174, 1906.

Spezialwerken¹⁾. Hier sei nur auf eine Arbeit von A. Herrmann²⁾ verwiesen, die sich hauptsächlich mit der quantitativen Glycerinbestimmung im Harn (nach Zeisel-Fanto) beschäftigt.

Herrmann unterwarf 5 ccm Harn, aus denen vorher mittels Bariumchlorid die Sulfate entfernt wurden, direkt der Glycerinbestimmung. Die Bestimmungen wurden in einem von Stritar³⁾ vereinfachten Apparat ausgeführt, nur wurde zwischen das Steigrohr und die Vorlage eine Péligröttröhre eingeschaltet, um den Schwefelwasserstoff zurückzuhalten. Aus dem AgJ-Niederschlag berechnet nun Herrmann eine tägliche Glycerinausscheidung von 0,1 bis 1,5 g, „falls der Silberniederschlag nur dem im Harn enthaltenen Glycerin seinen Ursprung verdankt“.

Da uns die Menge des eventuell ausgeschiedenen Glycerins viel zu hoch erschien, so befaßte ich mich auf Anregung des Herrn Prof. F. Tangl mit dieser Frage näher und will nun im folgenden die Resultate meiner Versuche beschreiben.

Vor allem wollten wir feststellen, auf welche Weise man das im Harn eventuell vorhandene Glycerin in reinem Zustande quantitativ isolieren kann. Wir unternahmen deshalb zahlreiche diesbezügliche Versuche, wobei wir uns einer Standardlösung von Glycerin in Wasser bedienten. Dieselbe wurde in der Weise hergestellt, daß eine vorsichtig abgewogene Menge Glycerin⁴⁾ in Wasser gelöst wurde. Der Glyceringehalt dieser Lösung wurde noch zweimal bestimmt. Das eine Mal wurde er aus dem spezifischen Gewicht der Flüssigkeit berechnet⁵⁾; das andere Mal nach dem Verfahren von Zeisel und Fanto ermittelt. Die zwei Resultate stimmen mit der abgewogenen Menge vollkommen überein. Von den vielen Versuchen, die

¹⁾ Von diesen sei seiner Vollkommenheit wegen C. Neubergs: „Der Harn sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten“ besonders hervorgehoben.

²⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 422, 1904.

³⁾ Zeitschr. f. anal. Chem. 42, 579.

⁴⁾ Dieses war das reinste von der Firma C. A. F. Kahlbaum gelieferte Präparat.

⁵⁾ Mittels Westphalscher Wage und Tabelle von Lenz (Fresenius-Zeitschr. 19, 302).

mit dieser Lösung ausgeführt wurden, wollen wir nur die wichtigsten erwähnen, indem wir ihre Endresultate nun wiedergeben.

Im Vakuum von 15 mm destilliert aus einer wässrigen Glycerinlösung bei 20° reines Wasser über. Das Destillat enthält keine Spuren von Glycerin. Selbst wenn bis zur Trockne eingedampft wurde, konnte im Destillat kein Glycerin nachgewiesen werden. Wird dagegen in den evakuierten Kolben, in dem nach den eben angegebenen Bedingungen zur Trockne eingedampft wurde, 100°iger Wasserdampf geleitet und nun diese „Wasserdampfdestillation im Vakuum“ etwa eine halbe Stunde lang unterhalten, so geht das Glycerin fast quantitativ über. Wurde nach einer viertel Stunde die Destillation unterbrochen und dann die ganze Operation zwei- oder mehreremal wiederholt, so stellte sich heraus, daß die Resultate immer besser wurden. So fanden wir das Glycerin nach viermaligem Destillieren (je eine viertel Stunde) in der Vorlage praktisch quantitativ wieder.

Auf diese Weise kamen wir zu einem sicheren Verfahren, um das im Harn eventuell vorhandene Glycerin vollständig zu isolieren und dann im Destillat quantitativ zu bestimmen. Auch M. Nicloux¹⁾ benutzte bei seinen Glycerinbestimmungen die Vakuum-Destillation, indem er mittels Wasserdampfes das Glycerin überdestillierte und dann das Destillat mit Kaliumbichromat titrierte. Nun kommen aber im Harn auch solche Verbindungen vor, die mit Wasserdampf flüchtig und mit Kaliumbichromat oxydabel sind. Diese täuschen dann — wie dies der Autor selbst zugibt — Glycerin vor und machen dadurch das Versuchsergebnis illusorisch.

Um bei unseren Untersuchungen vollkommen einwandfreie Resultate zu erhalten, schlugen wir gleichzeitig zwei Wege ein. Einerseits gebrauchten wir ein solches Verfahren, bei dem die außer dem gesuchten Glycerin eventuell vorhandenen Bestandteile die Bestimmung nicht beeinträchtigen konnten, und andererseits befreiten wir den zu untersuchenden Harn von allen solchen Verbindungen, die bei der Untersuchung störend wirken könnten. Auf diese Weise erhielten wir zwei parallele Versuchsreihen, die sich gegenseitig kontrollierten und bestätigten,

¹⁾ Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. 5, 803, 1903.

wie dies später ausführlich gezeigt wird. Um diese Überlegungen auch verwirklichen zu können, mußten zahlreiche Versuche ausgeführt werden, um die Versuchsbedingungen und Methoden möglichst zweckmäßig anzuordnen bzw. abzuändern.

Wir wollen im folgenden nur jene zwei entscheidenden Versuchsreihen beschreiben, die es uns ermöglichten, die Frage nach dem Glyceringehalt des Harnes endgültig zu beantworten. Bei der ersten Versuchsreihe wurde das aus dem Harne gewonnene Destillat einer quantitativen Glycerinbestimmung unterworfen; bei der zweiten dagegen in dem von allen störenden Bestandteilen befreiten Harne direkt die quantitative Bestimmung unternommen.

I. Wie schon früher erwähnt wurde, destilliert das Glycerin aus seiner Lösung quantitativ über, wenn man unter bestimmten Bedingungen 100°igen Wasserdampf einleitet. Der dazu benutzte Apparat ist in nebenstehender Figur wiedergegeben.

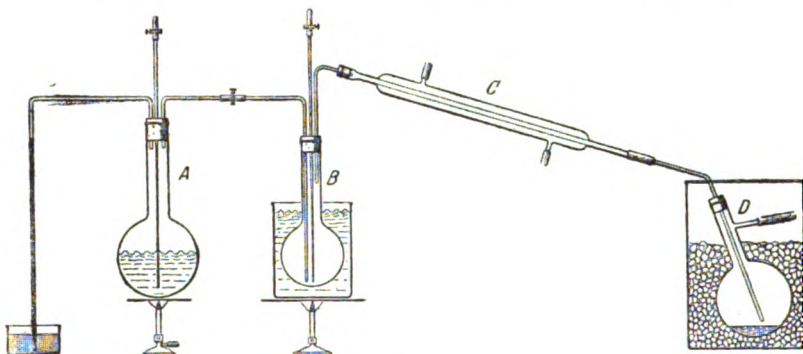


Fig. 1.

Er besteht aus folgenden Teilen: Im großen Rundkolben „A“ wird der Wasserdampf entwickelt; der Rundkolben „B“ enthält die auf Glycerin zu prüfende Flüssigkeit und steht in einem mit Wasser gefüllten Gefäß; „C“ ist ein Energiekühler (im Bilde der Übersicht wegen als Liebig-Kühler gezeichnet) und „D“ ein Destillationskolben, der sich in einer Kältemischung befindet und von wo aus das ganze System evakuiert wird. Die Kolben „A“ und „B“ sind mit kapillär ausgezogenen Steigröhren versehen, durch die man Luft eindringen lassen kann, um einem Siedeverzug vorzubeugen. Vor den Dampfentwickler ist ein etwa 80 cm hohes Rohr geschaltet, das in eine Quecksilberwanne taucht und das als Ventil und Vakuummeter wirkt. Es ist genau darauf zu achten, daß alle Dichtungen vollkommen schließen.

Im folgenden sei nun eine genaue Beschreibung des eigentlichen Versuches gegeben. In den Rundkolben „B“ werden 100 ccm Harn abgemessen und, nachdem die Klemmschraube zwischen den Kolben „A“ und „B“ vollkommen verschlossen war, bei ca. 27° im Vakuum destilliert. Zu diesem Zwecke wird vom Kolben „D“ aus bis zu 15 mm Hg evakuiert und das Gefäß mit Wasser, in dem der Kolben „B“ stand, auf etwa 30° erwärmt. Während der Harn in „B“ eindampft, beginnt das Wasser im Kolben „A“ zu sieden. Der sich entwickelnde Dampf entweicht, da die Klemmschraube zwischen „A“ und „B“ verschlossen ist, durch das vorgelegte Quecksilber. Ist nun der Harn in „B“ vollkommen eingedampft, so wird, nachdem der Destillationskolben „D“ entleert und das ganze System wieder auf 15 mm Vakuum gebracht ist, das den Kolben „B“ umgebende Wasser zum Sieden gebracht und dann die Verbindungsschraube zwischen „A“ und „B“ vorsichtig geöffnet. Der Dampf entweicht nun nicht mehr durch das Quecksilber, sondern strömt in den Kolben „B“, von wo er mit den Glycerindämpfen in die Vorlage „D“ destilliert. Man muß darauf achten, daß die Temperatur des siedenden Wassers nicht erheblich unter 100° sinkt, was durch Regulieren der Klemmschraube zwischen den Kolben „A“ und „B“ leicht zu bewerkstelligen ist. Um die Temperatur des Wasserdampfes kontrollieren zu können, steckt im Stopfen des Kolbens „A“ noch ein Thermometer (nicht abgebildet).

Nach etwa einer Viertelstunde wird die Destillation unterbrochen, indem man erst die Klemmschraube zwischen „A“ und „B“ schließt und dann allmählich durch das Steigrohr in den Kolben „B“ Luft einströmen läßt. Sobald das zwischen den Destillationskolben „D“ und die Wasserstrahlpumpe geschaltete Vakuummeter nur noch eine minimale Druckdifferenz zeigt, werden in den Kolben „B“ etwa 100 ccm Wasser gelassen. Um das System nicht auseinandernehmen zu müssen, steckten wir in das am oberen Ende des Steigrohres sich befindende Gummistück das ausgezogene Rohr einer Spritzflasche. Durch das Vakuum wird dann das Wasser automatisch aus der Spritzflasche in den Kolben gesaugt. Das eingelassene Wasser hat den Zweck, die durch die ausgeschiedenen Salze eventuell eingeschlossenen Glycerinpartikelchen wieder in Freiheit zu bringen.

Nachdem das Wasser die ausgeschiedenen Salze wieder löste, wurde die Flüssigkeit abermals eingedampft. War dies geschehen, so wurde wieder Wasserdampf eingeleitet, genau wie vorher angegeben. Nachdem 4 mal je $\frac{1}{4}$ Stunde destilliert wurde, mußte — wie wir bei den Vorversuchen fanden — das ganze eventuell vorhandene Glycerin übergegangen sein, und der Versuch war beendet.

Wir dampften nun die in der Vorlage *D* sich befindende Flüssigkeitsmenge von ca. $\frac{1}{2}$ l auf etwa 50 ccm ein. Dies geschah in einem Vakuum von 15 mm bei 27° , da unter diesen Umständen, wie dies die Vorversuche ergaben, nur reines Wasser überdestilliert. Endlich wurde im Exsiccator bis zu etwa 5 ccm eingengt und diese Flüssigkeitsmenge der quantitativen Glycerinbestimmung¹⁾ unterworfen. Die vorgelegte Silberlösung, in der sich das aus dem Glycerin gebildete Isopropyljodid mit dem überschüssigen AgNO_3 in äquivalenten Mengen zu AgJ umsetzt, war nach Beendigung der Bestimmung schwach opaleszierend. Ein Niederschlag war nicht sichtbar. Nach 24 stündigem Stehen konnte der mittlerweile zusammengeballte, jedoch äußerst spärliche Niederschlag abfiltriert werden. Sein Gewicht betrug bei einer Bestimmung 0,0058 und bei der anderen 0,0056 g.

II. Die zweite Versuchsreihe bestand aus quantitativen Glycerinbestimmungen in Harnen, aus welchen alle Bestandteile, die störend wirken könnten, entfernt wurden. Deshalb unterwarfen wir den Harn, bevor wir seinen Glyceringehalt ermittelten, einer Reinigung. Wir versetzten zu diesem Zwecke den Harn mit einem kleinen Überschuß AgNO_3 . Nachdem sich der Niederschlag absetzte, wurde filtriert und gut ausgewaschen. Nun wurden die Sulfate durch eine konzentrierte Lösung von Ba(OH)_2 gefällt. Um den Überschuß des Fällungsmittels zu entfernen, leitete ich in die Flüssigkeit (ohne zu filtrieren) 10 Stunden lang einen nicht zu schnellen Kohlensäurestrom. Nachdem nun vom Niederschlag abfiltriert wurde, dampfte ich 10 ccm bis zur Hälfte ein und unternahm darin die quantitative Glycerinbestimmung. Auch in diesem Falle war nach Beendigung der Bestimmung kein Niederschlag, sondern nur eine Opalescenz

¹⁾ Nach Zeisel und Fanto (l. c.); ausgeführt nach der Vorschrift, wie sie in der Arbeit von Tangl und Weiser (l. c.) ausführlich wiedergegeben ist.

der vorgelegten Silberlösung wahrzunehmen. Die Opalescenz trat auch hier — ebenso wie bei den Versuchen der ersten Versuchsreihe — erst nach der Verdünnung mit Wasser ein. Am nächsten Tage konnte der spärlich abgesetzte Niederschlag abfiltriert und gewogen werden. Er betrug bei drei Bestimmungen 0,0058, 0,0056 und 0,0064 g; der Mittelwert war demnach 0,0059 g.

Nach den zwei gleichlautenden Versuchsreihen erhielten wir also tatsächlich bei der Behandlung des Harnes nach der Jodidmethode einen Silberniederschlag, dessen Menge im Mittel 0,0058 g beträgt. Um nun festzustellen, ob es auch wirklich Glycerin ist, was diesen Niederschlag verursachte, unternahmen wir noch einen Versuch, der eine ausschlaggebende Antwort gab und unsere kritischen Schlußfolgerungen vollauf bestätigte. Wir führten nämlich das ganze Zeisel-Fantosche Verfahren mit einer abgemessenen Menge destillierten Wassers durch. Auch hier erhielten wir in derselben Weise erst nach dem Verdünnen mit Wasser eine Opalescenz der Silberlösung. Nach 24 stündigem Stehen wurde abfiltriert; der Niederschlag wog auch hier 0,0060 g. — Dieses Resultat läßt eindeutig erkennen, daß der entstandene Niederschlag keinesfalls von Glycerin verursacht wurde. Diese Niederschlagsmenge liegt eben innerhalb der Grenze dieser Methoxylbestimmungsmethode (s. Guido Goldschmied¹⁾).

Aus unseren Versuchsergebnissen geht deutlich hervor, daß im normalen Harn kein Glycerin in freiem Zustande vorhanden ist. Der Niederschlag, den Herrmann bei seinen Versuchen erhielt, kam vielleicht daher, daß er den Harn vor der Glycerinbestimmung nicht genügend reinigte. Die Chloride (die Herrmann nicht entfernte) wirken beim Zeisel-Fantoschen Verfahren störend. Auch wir unternahmen Glycerinbestimmungen in solchen Harnen, aus denen die Chloride nicht entfernt wurden, und erhielten dann viel höhere Werte (durchschnittlich 0,0090 g AgJ), als wenn die Chloride abwesend waren.

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 47, 389, 1914.

Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des Enten- und Hühnerharnes.

Von

Kornelius Szalágyi und Alexander Kriwuscha (Kiew).

(Aus der kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation in Budapest.
[Vorstand: Franz Tangl.]

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Da die bisherigen Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung des Enten- und Hühnerharnes zum Teil noch lückenhaft sind, benutzten wir auf Anregung des Herrn Prof. F. Tangl die Gelegenheit, die uns Respirationsversuche mit diesen Tieren boten, diesbezügliche Untersuchungen auszuführen.

Schon Fourcroy und Vauquelin sowie Chevreul¹⁾ haben bereits vor etwa 100 Jahren gezeigt, daß der hauptsächliche N-haltige Bestandteil des Vogelharnes die Harnsäure ist. Diese Säure wird, wie aus Meißners (A. Ellinger, l. c.) Untersuchungen hervorgeht, zum größten Teil im freien Zustande ausgeschieden. Nach Meißner bestehen die charakteristischen weißen Kügelchen, welche die Hauptmasse des Vogelharnes bilden, aus Harnsäure. Neben der Harnsäure befindet sich im Vogelharn Ammoniak, Spuren von Harnstoff (Coindet, Meißner), und zwar reichlicher bei animalischer als bei vegetabilischer Kost, Kreatin (Meißner), Kreatinin (Schary) im Hunger und nach Fleischfütterung, Milchsäure (Kowalevsky und Salaskin) und regelmäßig eine eiweißartige Substanz, in der Harnsäurekügelchen eingeschlossen sind. Guanin fehlt im Hühner- und Gänseharn. Die Schwefelsäure des Harnes ist zum Teil in Form von Ätherschwefelsäure vorhanden (Schary). Über die anorganischen Bestandteile liegen nur wenig Analysen vor; nur das Vorkommen von Kalk wird von allen Autoren erwähnt.

Die Verteilung des Stickstoffes im Harn der Gänse wurde von Kowalevsky und Salaskin²⁾ untersucht. Die Verfasser fanden bei

¹⁾ A. Ellinger, Chemie des normalen Harnes im Handb. d. Biochem. 3, 541.

²⁾ Kowalevsky u. Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 566, 1902.

gewöhnlicher Nahrung im Gänseharn pro Tag 2,372 g Gesamtstickstoff, von dem 56,08% in Harnsäure, 4,85% in Harnstoff und 33,36% in NH_3 verteilt waren. Nach Verff. wird die Harnsäure bei allen Tieren teilweise synthetisch, teilweise durch Oxydation gebildet, und ein Unterschied besteht bei den einzelnen Tierarten nur darin, daß die im Harn enthaltenen stickstoffhaltigen Produkte einer regressiven Metamorphose unterworfen sind, infolgedessen dieselben bei einzelnen Tieren als Harnsäure, bei anderen aber als Harnstoff ausgeschieden werden.

Nach Zufuhr von Benzoesäure enthält nach Jaffé (Ellinger, l. c.) der Hühnerharn Ornithursäure statt der bei Säugetieren auftretenden Hippursäure. Ob die Ornithursäure auch im normalen Vogelharn vorkommt, ist noch nicht entschieden.

Die Harnsäure ist demnach das Hauptprodukt des Eiweißstoffwechsels bei den Vögeln. Nach Minkowsky (A. Ellinger, l. c.) macht sie 60 bis 70% des Gesamtharnstoffes aus. Harnstoff, Aminosäuren, Ammonsalze, deren Darreichung bei Säugetieren die Harnstoffausscheidung vermehren, führen bei den Vögeln zu erhöhter Harnsäureausscheidung.

In neuester Zeit hat N. C. Sharpe¹⁾ den durch Uretherkatheterisation gewonnenen Harn einer großen Anzahl Hühner auf seinen Gehalt an Gesamtstickstoff, Harnsäure, NH_3 und Phosphor untersucht. Die in 24 Stunden produzierte Harnmenge betrug 500 bis 1000 ccm, durchschnittlich wurden in 24 Stunden im Harn ausgeschieden: N 1,6 g, Harnsäure 0,9 g, NH_3 0,9, Chloride 2,7 g, Phosphate 0,8 g. Da Hühner unter normalen Bedingungen so gut wie gar keinen Harn (ohne Kot) von sich geben, so folgt nach Verfasser, daß das im Harn enthaltene Wasser fast vollständig vom Mastdarm wieder resorbiert wird.

Einige physiko-chemische Eigenschaften des Hühnerharnes wurden von G. d'Errico²⁾ untersucht, indem er die elektrische Leitfähigkeit und den Gefrierpunkt bestimmte. Der Urin wurde dabei durch eine in die Kloake eingeführte Kanüle gesammelt. Für normalen Harn fand Verfasser eine spezifische elektrische Leitfähigkeit $k_{35,6}$ zwischen $219 \cdot 10^{-4}$ bis $226 \cdot 10^{-4}$; eine Gefrierpunktdepression zwischen $0,715^\circ$ bis $0,820^\circ$.

Unsere Versuche haben wir an 2 ausgewachsenen kastrierten Hähnen (Körpergewicht 830 g bzw. 1300 g) und an 2 Enterichen (Körpergewicht 1020 g bzw. 1200 g) ausgeführt.

An allen 4 Tieren wurde ein Anus praeternaturalis angelegt und die Versuche erst begonnen, nachdem die Wunde vollständig verheilt war. Die getrennte Sammlung von Harn und Kot machte keine Schwierigkeiten.

Der Harn wurde in einem an die Kloakenöffnung nach Völtz³⁾ befestigten Harnbeutel, der Kot ebenfalls in einem an

¹⁾ N. C. Sharpe, Amer. Journ. Physiol. **31**, 75 bis 84. Zitiert nach Chem. Centralbl. **17**, I, 1045, 1913.

²⁾ G. d'Errico, Beiträge z. chem. Physiol. **9**, 455, 1907.

³⁾ Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **3**, II, S. 1058.

den Anus praeternaturalis befestigten Gummibeutel gesammelt. Der Harn wurde möglichst in ganz frischem Zustande verarbeitet, was besonders bei dem Entenharn angezeigt erschien, da derselbe einige (3 bis 4) Stunden nach der Entleerung noch homogen war und die Harnsäureausscheidung erst dann begann. Der Hühnerharn, der schon ursprünglich viel konzentrierter war, enthielt schon bei der Entleerung ungelöste Bestandteile, deren Menge beim Stehen ebenfalls zunahm.

In den Versuchen, wo wir die pro Tag produzierte Menge der einzelnen Bestandteile bestimmten und es sich um eine durchschnittliche Zusammensetzung des Tagesharnes handelte, wurde der Harn einige Tage quantitativ gesammelt, die einzelnen Harnportionen im Eisschrank gehalten, mit Thymol konserviert und der flüssige Teil entweder durch Filtrieren — was indessen infolge kolloider Bestandteile sehr langsam ging — oder durch Zentrifugieren von den festen Teilen getrennt und beide Teile separat untersucht.

Als Futter bekamen die Hühner und Enten während der Untersuchungen Mais. Die Wasseraufnahme betrug bei den Enten 300 bis 400 ccm, bei den Kapaunen ca. 100 ccm pro Tag.

I. Chemische Zusammensetzung.

Zur Bestimmung der Trockensubstanz wurden 50 bis 100 ccm Harn, in einigen Fällen die gesamte Tagesmenge, im Luftstrom-Trockenapparat bei mäßiger Temperatur (30 bis 40°) eingetrocknet. Der Rückstand wurde nachher noch einige Stunden über Phosphorpentoxyd im Exsiccator getrocknet.

Die Aschebestimmungen wurden durch Veraschen bei gelindem Glühen nach dem Auslauge-Verfahren ausgeführt. Die einzelnen Bestandteile der Asche wurden nach den gebräuchlichen Methoden bestimmt. So der Phosphorgehalt nach Woy als Magnesiumpyrophosphat, das Calcium nach Behandeln des Harnes mit FeCl_3 , nachher mit $\text{NH}_4(\text{OH})$ durch Fällern mit Ammoniumoxalat in essigsaurer Lösung, als CaO , das Magnesium als Magnesium-Pyrophosphat, das Cl nach Volhard titriert, der Schwefelgehalt als BaSO_4 , die K- und Na-Menge indirekt als Sulfate. Neben dem anorganischen Sulfatgehalt der Asche wurde im Harn noch Gesamtschwefel, sowie gepaarte oder Äther-Schwefelsäure (Methode E. Baumanns¹⁾) und im Filtrat von letzterer nach Heß neutraler Schwefel bestimmt. Zur Bestimmung des Gesamt- und organischen Phosphors wurde im $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ -haltigen Harn mit Magnesiummischung gefällt und im Filtrat nach dem Veraschen mit $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ abermals Phosphorbestimmungen ausgeführt.

¹⁾ Neuberg, Der Harn. Berlin 1911, Bd. I, S. 140.

Wir bestimmten ferner:

1. den Gesamt-N nach Kjeldahl;
2. NH_3 nach Folin;
3. Carbamid (in 50 bis 100 ccm Harn) nach Henriques und Gammeltofts Methode (Neuberg, l. c.). In dem nach Fällern mit Phosphorwolframsäure erhaltenen Filtrat wurde dabei in Gegenwart von geringer Säuremenge der Harnstoff im Autoklaven quantitativ, in NH_3 und CO_2 zerlegt und das entstandene Ammoniak nachher nach Folin's Methode bestimmt;
4. die Harnsäure nach der Kupfermethode Krüger und Schmid ¹⁾, wobei wir auch die Menge der Purinbasen bestimmten (Neuberg, l. c.).
5. Auf Eiweiß wurde mit Sulfosalicylsäure und mit der äußerst empfindlichen Spiegler'schen Methode geprüft.
6. Die Aminosäuren wurden nach Zerstören des Harnstoffes mit Schwefelsäure im Autoklaven und Vertreiben des Ammoniaks mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nach van Slykes Methode bestimmt.
7. Die kolloiden Stickstoffsubstanzen nach Salkowskis Methode durch Fällern mit absolutem Alkohol und
8. der C-Gehalt auf nassem Wege durch Oxydation mit schwefel-saurem Kaliumbichromat.
9. Die calorimetrischen Verbrennungen wurden mit der Berthelot-Mahlerschen Bombe ausgeführt.

I. Farbe und Konsistenz des Enten- und Hühnerharnes.

Die Reaktion des frischen Enten- und ebenso des Hühnerharnes war in den meisten Fällen neutral gegenüber Lackmus und nur in einzelnen Fällen ganz schwach alkalisch.

Der Entenharn war von weißer Farbe, mehr oder weniger opalescent oder schon griesig, je nachdem mehr oder weniger Harnsäure ausfiel.

Der Hühnerharn war im allgemeinen von gelber oder bräunlicher Farbe von mehr breiiger Natur und enthielt auch schon in ganz frischem Zustand einen Niederschlag.

II. Zusammensetzung.

a) Entenharn.

Harn- menge ccm	Trocken- substanz g	Pro Tag		Cal.	$\frac{\text{C}}{\text{N}}$	$\frac{\text{Cal}}{\text{C}}$	$\frac{\text{Cal}}{\text{N}}$
		N	C				
		g	g				
I. 290	2,195	0,667	0,636	6,05	0,95	0,95	0,91
II. 230	1,807	0,616	0,510	5,46	0,83	1,07	0,89
III. 250	1,998	0,621	0,501	4,81	0,81	0,96	0,77
IV. 278	1,970	0,672	0,564	5,60	0,84	0,99	0,83
Mittel 225	2,10	0,636	0,552	5,48	0,86	0,99	0,85
	(= 0,93%) (= 0,28%)						

¹⁾ Krüger und Schmid, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 1, 1905.

b) Hühnerharn.

	Harn- menge ccm	Trocken- substanz g	Pro Tag		Cal.	$\frac{C}{N}$	$\frac{Cal}{C}$	$\frac{Cal}{N}$
			N	C				
			g	g				
I.	85	1,966	0,764	0,418	5,13	0,55	1,23	0,67
II.	100	2,280	0,530	0,585	6,03	1,10	1,03	1,14
III.	75	2,240	0,487	0,479	4,02	0,98	0,84	0,82
IV.	88	2,430	0,682	0,704	4,60	1,03	0,65	0,67
Mittel	90	2,46	0,616	0,546	4,94	0,92	0,94	0,83
			($= 2,48\%$) ($= 0,68\%$)					

III. Stickstoffverteilung.

a) Entenharn.

Tägliche Harnmenge (Mittel von 3 Tagen) 277,6 ccm, da-
von abzentrifugiert 270 ccm. Darin

N im gesamten Harn	0,6150 g
„ „ Niederschlag	0,4717 g
„ „ zentrifugierten Teil . .	0,1433 g

Der Niederschlag enthielt demnach $76,60\%$ des Gesamt-N.

Der größte Teil des Niederschlag-N entstammt der Harn-
säure, dem eine Harnsäuremenge von 1,378 g pro Tag ent-
spricht.

Verteilung des N:

N enthalten als	%	Tagesmenge g
Gesamt-N	100,00	0,615
in Ammoniak	3,20	0,020
„ Harnstoff	4,19	0,026
„ Harnsäure	77,88	0,479
„ Purinbasen	0,53	0,003
Kolloidaler N	4,09	0,025
in Aminosäuren	2,71	0,017
„ unbekannten Verbindungen	7,40	0,045

Es wurden außerdem noch Ammoniakbestimmungen eben-
falls nach Folin in ganz frisch entleerten Harnproben unter-
nommen, die noch vollständig niederschlagfrei und unzer-
setzt waren. Die Bestimmungen wurden nur an kleineren
Harnmengen ausgeführt. So erhielten wir im Mittel von 4 Be-

stimmungen in 100 ccm ganz frischen Entenharnes 0,0028 g Ammoniakstickstoff. Für 270 ccm Tagesdurchschnittsmenge berechnet, würde der Tagesharn der Enten demnach 0,0092 g NH_3 enthalten, also nur die Hälfte des oben angeführten Wertes.

b) Hühnerharn.

Harnmenge von 5 Tagen 600 ccm, daher pro Tag 120 ccm.

	pro Tag
N im gelösten Teil	0,122 g
N im Niederschlag	0,638 "
Summe	0,760 g

N-Bestimmungen im Gesamtharn ergaben demgegenüber 0,759 g N. Im Niederschlag sind 83,98%₀ des Gesamtstickstoffes enthalten. Der N ist zum größten Teil als Harnsäure vorhanden, deren Menge pro Tag 1,91 g beträgt.

N-Verteilung:

	%	Tagesmenge g
Gesamt-N	100,00	0,759
in Ammoniak	1,49	0,013
" Harnstoff	0,99	0,007
" Harnsäure	85,86	0,652
" Purinbasen	1,69	0,013
" Aminosäure	2,52	0,019
" unbekannten Verbind.	7,45	0,055

Von dem Gesamt-N des Harnes entfallen 85,9%₀ auf Harnsäure und nur die übrigen 14,1%₀ auf die übrigen Bestandteile. Der Ammoniakgehalt beträgt pro Tag 0,0167 g im gelösten Teile des Harnes, im Niederschlag wurden keine Bestimmungen ausgeführt.

Der Harnstoffgehalt ist dem Entenharn gegenüber noch geringer und beträgt pro Tag 0,019 g.

Um zu entscheiden, ob die Harnsäure als solche oder in Gestalt eines Alkalisalzes vorhanden ist, wurde in der im Niederschlage vorhandenen Harnsäure, nachdem dieselbe einige Mal umkrystallisiert wurde, Aschenbestimmungen ausgeführt. Wir erhielten in zweimal umkrystallisierter Harnsäure 2,27%₀

Asche. Da die Harnsäure als primäres Kaliumurat berechnet 22,8 % K_2O enthält, deutet ein 2,3 % iger Aschengehalt dahin, daß dieselbe, wenn nicht organisch gebunden, zum größten Teil als freie Harnsäure im Harn vorhanden ist und höchstens ein $\frac{1}{10}$ Teil derselben an Alkali gebunden ist. Es ist indessen dabei in Betracht zu ziehen, daß wahrscheinlich ein größerer Teil der Harnsäure schon in einem zersetzten Zustande vorhanden war. Wir führten Stickstoffbestimmungen in dem als Harnsäure betrachteten Teile des Harnniederschlages aus. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser enthielt der krystallinische Niederschlag 28,95 % N, nach zweimaligem Umkrystallisieren hingegen nur mehr 27,67 % N, dem normalen 33,34 % igen N-Gehalt gegenüber. Während demnach im ursprünglichen Niederschlag wahrscheinlich noch der größte Teil der Harnsäure als solche vorhanden ist, deutet der Stickstoffgehalt dahin, daß durch zweimaliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser die von Stadeler festgestellte Zersetzung fast quantitativ erfolgt ist, und statt Harnsäure nur Uroxansäure, die nach Stadeler 27,30 % N enthält, vorhanden ist.

Auffallend niedrig ist der Harnstoffgehalt im Entenharn. Es entsprechen nur 4,19 % des Gesamtstickstoffes dem Carbamidstickstoff, was einer täglichen Menge von 0,066 g Harnstoff entspricht.

Der Ammoniakstickstoff wurde im gelösten Harnteil bestimmt, er beträgt in 3 Tage lang gesammelten Harn, welcher inzwischen mit Thymol konserviert wurde, 3,20 % des Gesamt-N, was einer täglichen Ammoniakmenge von 0,0243 g entspricht.

IV. Zusammensetzung der Asche.

Zur Aschenanalyse wurden beiläufig 10 bis 15 g gesammelte Harnrockensubstanz ohne jeden Zusatz nach dem Auslaugungsverfahren vorsichtig verascht. Die Asche wurde dann in verdünnter Salpetersäure gelöst bis zu 200 ccm aufgefüllt und in aliquoten Teilen desselben die einzelnen Bestandteile nach den früher schon erwähnten Verfahren bestimmt.

Die Trockensubstanz des Entenharnes enthielt durchschnittlich 12,75 % jene des Hühnerharnes 15,90 % Aschebestandteile, was einer Tagesmenge bei der Ente von 0,268 g, bei dem Huhn von 0,355 g entspricht.

Gehalt an Aschenbestandteilen:

	Entenharn			Hühnerharn		
	100 g Asche enthalten g	Pro Tag g	In 100 com Harn g	100 g Asche enthalten g	Pro Tag g	In 100 com Harn g
CaO	2,63	0,0070	0,0311	9,93	0,0352	0,3911
MgO	Spuren	—	—	Spuren	—	—
K ₂ O	7,04	0,0188	0,0836	6,08	0,0216	0,2400
Na ₂ O	12,23	0,0328	0,1457	14,30	0,0500	0,5644
P ₂ O ₅	71,31	0,1910	0,8489	65,23	0,2310	2,5668
Cl ₂	4,47	0,0120	0,0533	4,39	0,0156	0,1733
SO ₃	0	0,0756	0,3360	0	0,0719	0,7990

Berechnen wir den Cl₂-Gehalt als NaCl, so entspricht ihm im Entenharn eine Tagesmenge von 0,0200 g, im Hühnerharn von 0,0260 g. Die einzelnen Aschenbestandteile in Äquivalenten ausgedrückt, stehen im Entenharn 0,0281 Anion-Äquivalenten 0,01609 Kation-Äquivalente gegenüber. In zwei Proben von Entenharn bzw. in deren Trockensubstanz haben wir auch die Verteilung des S bestimmt.

	Harn I.		Harn II.	
	% im Harn	Tagesmenge	% im Harn	Tagesmenge
		g in 225 com Harn pro Tag		g in 225 com Harn pro Tag
SO ₃ als Sulfatschwefelsäure . .	0,034	0,076	0,021	0,048
SO ₃ als gepaarte Schwefelsäure	0,001	0,002	0,002	0,004
Neutraler Schwefel nach Heß .	—	—	—	—
Summe:	0,035	0,078	0,023	0,053

Von dem gesamten Schwefelgehalt fallen im Harn Nr. I 97,1%, im Harn Nr. II 91,9% auf Sulfatschwefelsäure, 2,9% bzw. 8,1% auf gepaarte Schwefelsäuren; neutraler Schwefel konnte nicht nachgewiesen werden.

Der Entenharn enthielt 0,041% CO₂. Dieselbe wurde durch Austreiben mit H₂SO₄ aus dem Harn durch die Gewichtszunahme eines KOH-Apparates bestimmt.

V. Acidität.

Wir bestimmten in ganz frischen Entenharnportionen den titrierbaren Säuregehalt und den H⁺-Ionengehalt. Die titrierbare Säure wurde nach Naegeli¹⁾ bestimmt, indem wir den Harn mit $\frac{1}{10}$ -NaOH und

¹⁾ Neuberger, Der Harn, I. c.

Phenolphthalein als Indicator titrierten und nachher mit $\frac{1}{10}$ -H₂SO₄ und Alizarin als Indicator bis zum Farbeumschlag von rot in gelb weiter titrierten.

Der H-Ionengehalt wurde elektrometrisch ermittelt. Die Einrichtung war dabei die gebräuchliche, als Elektroden wurden Kalomelektroden benützt. Die benützte Kette war: Hg, HgCl, $\frac{1}{10}$ -KCl, Harn, H₂; ein Spiegelgalvanometer diente als Nullinstrument.

Zu Naegelis Titrationsverfahren haben wir statt 10 ccm, wie in der Vorschrift angegeben, 25 ccm ganz frisch entleerten Harnes verwendet. Die erhaltenen Resultate wurden für eine durchschnittliche Tagesmenge von 270 ccm Harn umgerechnet und in mg NaOH ausgedrückt.

Säuregehalt nach Nägeli.

Harnproben	Pro Tag.	
	Phenolphthalein- titrierung mit $\frac{1}{10}$ -NaOH in mg NaOH	Alizarintitrierung mit $\frac{1}{10}$ -H ₂ SO ₄ in mg NaOH
I.	17,32	58,97
II.	18,90	55,08
III.	23,62	57,95

H-Ionengehalt im Enten- und Hühnerharn.

Die H-Ionen-Konzentration wurde in zwei ganz frischen und zwei eintägigen Harnen bestimmt.

	Elektrom. Kraft π (Volt) Mittelwert	[H] ¹⁾
Frischer Entenharn	0,790	$6,3 \cdot 10^{-7}$
Eintägiger Entenharn . . .	0,826	$2,6 \cdot 10^{-7}$
Frischer Hühnerharn . . .	0,739	$1,7 \cdot 10^{-6}$
Eintägiger Hühnerharn . .	0,822	$2,2 \cdot 10^{-8}$

Der H-Ionengehalt des frischen Enten- und Hühnerharnes steht seiner amphoteren Reaktion entsprechend dem H-Ionengehalt des Blutes und der übrigen Körperflüssigkeiten nahe. Nach eintägigem Stehen tritt schon eine minimale Alkalität infolge Ammoniakbildung auf.

VII. Weitere Bestandteile.

I. Eiweiß konnte weder im Enten- noch im Hühnerharn nachgewiesen werden. Weder die Kochprobe noch die Hellsche Probe fiel positiv aus, sogar mit der empfindlichen Spieglerischen Reaktion nach deren Abänderung von Jolles,

¹⁾ [H] = Konzentration der H-Ionen in Gr.-Äquival. in 1 Liter.

die noch Eiweißlösungen in 1:350000 Verdünnung anzeigt, konnte kein solches nachgewiesen werden.

II. Salpetersäure war mit der Diphenylamin-Reaktion nach Lunge oder Goldschmidt ebenfalls weder im Enten- noch Hühnerharn nachweisbar.

III. Rhodanwasserstoffsäure konnte nach Gescheidlen nachgewiesen werden. Im Entenharn trat unter gleichen Verhältnissen eine geringere Rotfärbung ein als im Hühnerharn.

IV. Kreatinin fanden wir nicht, hingegen enthielt der Enten- und Hühnerharn Kreatin. Der Nachweis des Kreatins geschah indirekt, indem dasselbe mit Salzsäure im Autoklaven 3 Stunden bei 117° erhitzt wurde. Das gebildete Kreatinin wurde mit der Weylschen und Jafféschen Reaktion nachgewiesen.

V. Pepsin und Trypsin. Zum Nachweis des Harnpepsin und Harntrypsins benutzten wir Brodzkis und Benfeys¹⁾ Methode, Beide Proben fielen positiv aus.

B) Physikalische Eigenschaften.

I. Spezifisches Gewicht.

Die Bestimmungen wurden an frischen Harnproben bei 15° mit Hilfe eines 25 ccm fassenden Piknometers ausgeführt. Enthielt der Harn einen Niederschlag, so wurde er vorher durch Watte filtriert.

Nr.		Spezifisches Gewicht bei 15°
I.	Entenharn	1,0016
II.	do.	1,0017
III.	do.	1,0021
IV.	do.	1,0014
V.	do.	1,0019
VI.	do.	1,0020
I.	Hühnerharn	1,0026
II.	do.	1,0028
III.	do.	1,0023
IV.	do.	1,0022

Das spezifische Gewicht des Entenharnes betrug demnach im Mittel von 6 verschiedenen Tagesharnen 1,0018, des Hühnerharnes 1,0025.

¹⁾ Neuberg, l. c.

II. Gefrierpunktserniedrigung und osmotischer Druck.

Nach der Raoult-van't Hoff'schen Regel ist

$$P = 0,082 c T$$

wo P den osmotischen Druck, T die absolute Temperatur, c die molekulare Konzentration der Lösung bedeutet.

Ist Δ = Gefrierpunktermäßigung, so ist

$$c = \frac{\Delta}{1,86}.$$

Auf Grund der oben angeführten Formeln haben wir den osmotischen Druck und die molekulare Konzentration des Enten- und Hühnerharnes aus der beobachteten Gefrierpunkts-erniedrigung berechnet. Die Resultate enthält folgende Tabelle.

	Gefrierpunkts- erniedrigung °C	Osm. Druck in Atmosph.	$C = \frac{\Delta}{1,86}$
1. Frischer Entenharn . .	0,110	1,32	0,059
2. " "	0,114	1,36	0,061
3. " "	0,112	1,45	0,065
4. Gestandener "	0,105	1,25	0,056
1. Frischer Hühnerharn . .	0,320	3,85	0,172
2. " "	0,320	3,85	0,172
3. Gestandener "	0,245	2,95	0,132
4. " "	0,213	2,57	0,115

D'Errico¹⁾ fand für Hühnerharn eine größere Gefrierpunkts-erniedrigung, und zwar zwischen 0,715° bis 0,820°. Der Umstand, daß unsere Werte viel niedriger sind, könnte dahin deuten, daß möglicherweise ein Teil der Harnsäure in den ganz frischen Harnproben beim Gefrieren sich ausscheidet, doch konnte dies niemals nachgewiesen werden, da beim Schmelzen und Wiederholen des Gefrierens der einzelnen Proben dieselben Resultate gefunden wurden.

III. Elektrische Leitfähigkeit.

Die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit erfolgte nach der Kohlrausch'schen Telephonmethode.

In der nachstehenden Tabelle ist die spezifische Leitfähigkeit des Enten- und Hühnerharnes bei 20° in reziproken Ohmen angegeben.

¹⁾ Neuberg, l. c.

	Spez. elektr. Leitfähigkeit in reziproken Ohm	Bemerkungen
1. Frischer Entenharn	$24,12 \cdot 10^{-4}$	1 Stunde nach der Entleerung
2. do.	$27,44 \cdot 10^{-4}$	5 Stunden nach der Entleerung
3. do.	$28,12 \cdot 10^{-4}$	6 Stunden nach der Entleerung
4. Gestandener Entenharn	$39,99 \cdot 10^{-4}$	Einen Tag gestanden
5. do.	$59,92 \cdot 10^{-4}$	
6. do.	$20,93 \cdot 10^{-4}$	Einen Tag gestanden
Mittelwert:	$33,42 \cdot 10^{-4}$	
1. Frischer Hühnerharn	$25,73 \cdot 10^{-4}$	Einige Stunden nach der Entleerung
2. do.	$34,12 \cdot 10^{-4}$	do.
3. do.	$41,99 \cdot 10^{-4}$	do.
4. Gestandener Hühnerharn	$32,59 \cdot 10^{-4}$	Einen Tag gestanden
5. do.	$56,94 \cdot 10^{-4}$	do.
Mittelwert:	$38,27 \cdot 10^{-4}$	

IV. Oberflächenspannung.

Die Bestimmungen der Oberflächenspannung wurden mit einem Traubesehen Stalagmometer, das für Wasser eine Tropfenzahl von 45 ergab, bei 20° ausgeführt. Die relative Oberflächenspannung wurde aus dem Gewicht eines Tropfens bzw. aus dem Verhältnis desselben zu dem Gewicht eines Wassertropfens berechnet. Das Gewicht eines Tropfen Wassers bei 20° ergab im Mittel 0,1186 g.

	Entenharn.		Bemerkungen
	Gewicht eines Tropfens	Relative Oberflächenspannung	
	g	Wasser = 100	
1. Gestanden	0,1083	95,03	Zweimal filtriert
2. Einen Tag gestanden	0,1173	102,91	Durch Watte filtriert
Zwei Tage gestanden	0,1143	100,33	do.
3. Frisch	0,1158	101,63	1 $\frac{1}{2}$ stündige Produktion
Derselbe Harn einen Tag später	0,1130	99,14	Durch Watte filtriert
4. Frisch	0,1144	100,34	
Einen Tag später	0,1140	100,07	Durch Watte filtriert
Zwei Tage später	0,1140	100,07	do.
5. Frisch	0,1160	101,77	
6. Frisch	0,1177	103,30	
Einen Tag später	0,1149	100,78	Durch Watte filtriert

Hühnerharn.

1. Frisch	0,1093	95,94	Durch Watte filtriert
2. Frisch	0,1089	95,51	do.
3. Einen Tag gestanden	0,1160	101,75	do.
Zwei Tage gestanden	0,1144	100,40	do.
4. Einen Tag gestanden	0,1158	101,64	do.
5. Frisch	0,1107	97,16	do.

Der Entenharn besitzt demnach im frischen Zustande eine etwas größere Oberflächenspannung als der frische Hühnerharn, dieselbe ist beiläufig jener des Wassers gleich. Beim Stehen des Entenharnes sinkt seine Oberflächenspannung, wahrscheinlich infolge Ausfallens von die Oberflächenspannung erhöhenden Substanzen.

Dies konnte bei ganz frischen Harnproben, wo die Ausscheidung bzw. Auskrystallisierung der Harnsäure eben eintrat, direkt beobachtet werden. So ergaben bei zwei ganz frischen Entenharnproben die nacheinander ausgeführten Bestimmungen folgende Werte:

Reihenfolge d. Bestimmungen	Gewicht eines Tropfens g	Relative Oberflächenspannung Wasser = 100	Entenharn Nr.	Bemerkungen
1.	0,1228	103,89	I.	
2.	0,1200	101,51		
3.	0,1101	100,76		
4.	0,1183	100,11		
1.	0,1222	103,40	II.	
2.	0,1210	102,40		
3.	0,1194	101,00		
4.	0,1197	101,30		
5.	0,1189	100,60		
6.	0,1177	99,60		
7.	0,1175	99,44		Nächsten Tag
8.	0,1175	99,43		do.
9.	0,1176	99,48		do.

Solange daher ein Auskrystallisieren erfolgt, sinkt die Oberflächenspannung. Bei Probe Nr. II sind die am nächsten Tage bestimmten Werte schon konstant, zum Zeichen, daß der Harn aus dem labilen Zustand in einen bereits stabileren übergegangen ist. Die Oberflächenspannungs-Bestimmungen an frischen Harnen geben demnach keine vergleichbaren Werte, indem sie von ihrem

jeweiligen Stabilitätszustande abhängig sind. In welchem Maße nun dabei die hauptsächlich auskristallisierende Harnsäure oder die mit ihr ausfallenden Salze, bzw. kolloidalen Substanzen beteiligt sind, bleibt unentschieden. Wahrscheinlich verursachen die geringen Mengen oberflächenaktiver Substanzen, die vielleicht bloß mechanisch mit der Harnsäure mitgerissen werden, zum großen Teil die Depression der Oberflächenspannung. Nach eingetretenem Gleichgewicht ist indessen die Oberflächenspannung auch nicht konstant infolge der bald eintretenden Zersetzung des Harnes.

Im Vergleich mit der niedrigen Oberflächenspannung des normalen Menschenharnes, die im Mittel um 90 herum (Wasser = 100) schwankt, sind die Werte beim Enten- und Hühnerharn bedeutend höher. Wie schon bereits F. G. Doman (Neuberg, l. c.) nachgewiesen hat, scheint eine gewisse Beziehung zwischen der Dichte und der Oberflächenspannung des Harnes zu bestehen. Den höchsten Werten der Oberflächenspannung entsprechen die niedrigsten Werte der Dichte, und im allgemeinen hat der Harn von niedrigerer Oberflächenspannung eine größere Dichte. Nach Neuberg ist die Zunahme der Dichte des Harnes mehr durch eine größere Konzentration der organischen Stoffe als der Mineralsalze bedingt. Die geringere Oberflächenspannung des Harnes, der eine größere Dichte zeigt, steht also in vollkommener Übereinstimmung mit dem, was von dem überwiegenden Einfluß gesagt wurde, den die organischen Bestandteile des Harnes auf seine Oberflächenspannung ausüben.

Die Dichte des untersuchten Entenharnes (im Mittel 1,0018) und jene des Hühnerharnes (im Mittel 1,0025) ist bedeutend niedriger als die des Menschenharnes (1,020 bis 1,030), dementsprechend ist auch die Oberflächenspannung beim Vogelharn höher, und zwar die des Entenharnes mit kleinerem spez. Gewicht im Mittel größer (101,76) als die des Hühnerharnes (96,20) mit größerem spez. Gewicht. Was nun das Verhältnis der organischen Bestandteile zu den anorganischen betrifft, enthalten

	organische Bestandteile	anorganische Bestandteile
	g	g
100 ccm Entenharn . . .	0,81	0,12
100 ccm Hühnerharn . . .	2,09	0,39

Der Hühnerharn ist an organischen Bestandteilen mehr als doppelt reicher als der Entenharn, was sich auch in den Oberflächenspannungen kundgibt.

V. Viscosität.

Die Viscositätsbestimmungen wurden mit dem Viscosimeter von Scarpa (Neuberg, l. c.) bei 20° ausgeführt.

Über Viscositätsbestimmungen in Harnen liegen bis zur Zeit nur wenig Untersuchungen vor. F. Bottazzi fand für Hundeharn Werte zwischen 1,07 bis 1,19. Nach ihm scheinen die Schwankungen mit der Menge des ausgeschiedenen Harnstoffs in Beziehung zu sein.

Unsere Untersuchungen gaben für Entenharn trotz seines viel niedrigeren Gehaltes an organischen und anorganischen Bestandteilen höhere Werte.

Nummer des Harnes	Harnart	Viscosität be- zogen auf Wasser (Wasser = 1)	Bemerkungen
1.	Frischer Entenharn	1,264	Durch Watte filtriert
2.	do.	1,302	do.
3.	do.	1,174	do.
4.	do.	1,187	do.
5.	Gestandener Entenharn	1,030	do.
6.	Frischer Hühnerharn	1,068	do.
7.	do.	1,070	do.
8.	do.	1,043	do.

Die Viscosität des frischen Hühnerharnes ist niedriger als die des Entenharnes. Die Viscosität des Harnes steht mit dem Gehalt an gelösten bzw. kolloiden Substanzen in Beziehung. Ganz frischer Entenharn ist schon augenscheinlich eine viscösere Flüssigkeit und es entspricht ihm auch, entgegen seinem relativ ganz geringen Trockengehalt, eine ganz beträchtliche (1,23) Viscosität. Beim Stehen und Ausscheiden von gelösten und kolloiden Substanzen sinkt seine Viscosität.

Die Veränderungen der Viscosität beim Stehen des frischen Harnes zeigen folgende Bestimmungen.

Nr.		Viscosität Wasser = 1	Bemerkungen
I.	Frischer Entenharn	1,056	Durch Watte filtriert
	Einen Tag später	1,040	do.
	Zwei Tage später	1,012	do.

Nr.	Viscosität Wasser = 1	Bemerkungen
II. Frischer Entenharn	1,051	do.
Einen Tag später	1,024	do.
Zwei Tage später	1,020	do.
III. Frischer Entenharn	1,064	do.
Einen Tag später	1,012	do.
Zwei Tage später	1,015	do.
IV. Frischer Entenharn	1,075	do.
Einen Tag später	1,004	do.

Das Sinken der Viscosität beim Stehen steht mit den entsprechenden Veränderungen der Oberflächenspannung im Einklang. Nach eintägigem Stehen, sobald der Harn aus dem labilen in einen stabileren Zustand übergegangen ist, zeigt auch die Viscosität ähnlich der Oberflächenspannung konstante Werte. Letztere werden dann durch eine später eintretende Zersetzung beeinflusst. Ob die mit dem Ausscheiden der Harnsäure erfolgende Viscositätsabnahme nur durch das Ausfallen der Harnsäure verursacht wird und in welchem Maße dabei kolloide Zustandsveränderungen mitwirken, sei dahingestellt.

VI. Refraktion.

Die Bestimmungen wurden mit dem Pulfrichschen Refraktometer bei 20° ausgeführt.

Harnprobe	n_{20}^D
1. Frischer Entenharn	1,33350
2. do.	1,33358
3. do.	1,33358
4. 2 Tage gestandener Entenharn	1,33335
5. 1 Tag gestandener Entenharn	1,33335
6. do.	1,33342
7. 4 Tage gestandener Erntenharn	1,33334
8. Frischer Hühnerharn	1,33397
9. do.	1,33389
10. do.	1,33390
11. Älterer Hühnerharn	1,33364
12. do.	1,33350

Die Refraktion des Hühnerharnes ist entsprechend seinem etwas größeren Trockensubstanzgehalt um ein geringes höher als die des Entenharnes. Beim Stehen des Harnes und Ausfallen von gelösten Bestandteilen nimmt sie ab.

VII. Polarisation.

Die Bestimmungen wurden mit dem Lippich-Landolt-schen Polarisationsapparat mit dreiteiligem Gesichtsfeld bei 20° ausgeführt.

Geklärt wurden die Harnproben mit festem Bleiacetat nach Neuberg (l. c.).

Nr.		Drehung in Kreisgraden
1.	Frischer Entenharn	— 0,10°
2.	do.	— 0,05°
3.	do.	— 0,06°
4.	Frischer Hühnerharn	— 0,05°
5.	do.	— 0,06°

Über das Verhalten einiger Aminosäuren im Stoffwechsel der Vögel

Von

K. Szalágyi und A. Kriwuscha (Kiew).

(Aus der kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation in Budapest.
[Vorstand: F. Tangl.])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

I.

Gelegentlich der Respirationsversuche, die einer von uns an Enten und Hühnern unternahm, untersuchten wir auf Anregung des Herrn Prof. F. Tangl:

1. ob und in welcher Menge bei gewöhnlicher Fütterung Faeces und Harn der Enten und Hühner Aminosäuren enthalten, und

2. wie sich einige zugeführte Aminosäuren im Stoffwechsel dieser Tiere verhalten bzw. in welchem Verhältnis sie im Kot und Harn ausgeschieden werden.

Über den Aminosäuregehalt der Faeces und des Harns der Vögel sind bisher keine Untersuchungen angestellt worden.

Über den Aminosäuregehalt des Harns der Säugetiere äußert sich Andersen bei Neuberg¹⁾ folgenderweise: „Daß im normalen Harn Aminosäuren vorkommen können, läßt sich heutzutage wohl nicht mehr bezweifeln. Mit Sicherheit scheint jedoch nur Glykokoll nachgewiesen zu sein, aber die Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß auch andere Aminosäuren vorhanden sein können.“ Die menschlichen Faeces enthalten unter normalen Verhältnissen nach Neuberg weder bei Erwachsenen noch bei Kindern Aminosäuren. Gläßner (Neuberg, l. c.) fand in den Faeces von Hunden keine Aminosäuren, konnte jedoch im Dünndarminhalt derselben Leucin und Tyrosin nachweisen.

Nach D. van Slyke²⁾ beträgt der Aminostickstoff im Harn des normalen Menschen 1,5 bis 2,6 % des Gesamtstickstoffes. Bei Hunden

¹⁾ Neuberg, Der Harn, Bd. I, S. 569.

²⁾ Donald D. van Slyke, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 3170.

beträgt er 1,0 bis 2,5%. (Letztere Werte enthalten noch außer den freien Aminosäuren die der Eiweiß-, Hippursäure- usw. Hydrolyse entstammenden Aminosäuren. Letztere machen nach van Slyke beim Menschen ca. 45% der gesamten Aminosäuren aus.) Abderhalden¹⁾ fand in dem Darminhalt einiger Säugetiere stets Aminosäuren. Eine große Zahl der im Eiweiß vorhandenen Aminosäuren, wie Leucin, Valin, Glykokoll, Glutaminsäure, ebenso Tyrosin (letzteres nur in ganz geringer Menge) konnte er einwandfrei nachweisen. Bei Hunden, Schweinen, Rindern und Pferden betrugen die Aminosäuren bis zu 15% des Stickstoffgehaltes des Filtrates vom ausgekochten Darminhalt. Letzteren Wert bezeichnet A. aber als Minimalwert, weil er die durch Phosphorwolframsäure gefällten Aminosäuren nicht enthält. Aus dem Aminosäuregehalt des Darminhaltes kann jedoch kein richtiger Schluß auf die Menge der in den Faeces entleerten Aminosäuren gezogen werden, da ja, wie auch Abderhalden in seinen Schlußfolgerungen bemerkt, die Aminosäuren stets resorbiert und dem späteren Nachweis entzogen werden. Produkte, die er noch als Peptone abtrennte, wären wahrscheinlich im nächsten Moment zu Aminosäuren abgebaut worden, und Aminosäuren, die er noch isolieren konnte, würden bis zum Moment der Entleerung des Darminhaltes wahrscheinlich vollständig resorbiert gewesen sein.

Es sei an dieser Stelle noch auf eine Arbeit von E. Abderhalden, in der er über Fütterungsversuche bei Hunden mit vollständig abgebauten Nahrungstoffen berichtet wird, hingewiesen²⁾. Er sagt dort: „Führen wir dagegen dem Organismus direkt vollständig abgebautes Eiweiß zu, dann überschwemmen wir den Magendarmkanal mit Aminosäuren. Es war als beinahe sicher zu betrachten, daß im Harn sich größere Mengen von Aminosäuren nachweisen lassen! Das war jedoch nicht der Fall! Selbst bei Verfütterung von über 100 g des aus Fleisch erhaltenen Aminosäuregemisches zeigte der Harn nur ein auffallend geringes Ansteigen des Aminosäurestickstoffes. Es sei hier beiläufig erwähnt, daß diese Feststellung vielleicht dafür spricht, daß die Aminosäuren nicht als solche in das Blut übergehen, sondern bereits in der Darmwand zu Proteinen zusammengefügt werden. Führt man geringe Mengen von Aminosäuren direkt in das Blut ein oder injiziert man ein Aminosäuregemisch, dann treten im Harn Aminosäuren auf.“

Wir führten unsere Versuche an 2 Enten und 2 Hühnern aus. Der täglich produzierte Kot und Harn wurde getrennt aufgefangen, nachdem wir einen Anus praeternaturalis angelegt hatten. Sämtliche Versuche wurden erst nach vollständiger Erholung nach der Operation ausgeführt. Faeces und Harn

¹⁾ E. Abderhalden, Über den Gehalt des Darminhaltes einiger Säugetiere an freien Aminosäuren. Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 436.

²⁾ E. Abderhalden, Fütterungsversuche mit vollständig abgebauten Nahrungsmitteln. Zeitschr. f. physiol. Chem. 77, 25.

wurden in besonderen Gummibeuteln aufgefangen. Die tägliche Kotmenge trockneten wir bei gewöhnlicher Temperatur unter Vermeidung einer Zersetzung im Luftstromtrockenschrank und verarbeiteten dann die vereinigten Proben der einzelnen Versuchsperioden. Der täglich produzierte Harn wurde im Eisschrank gehalten und nach Möglichkeit sofort, sonst nach Konservierung mit Thymol verarbeitet.

In dem verabreichten Futter sowie im produzierten Kot und Harn bestimmten wir den Gesamt- und den Aminosäurestickstoff, ersteren nach Kjeldahl, letzteren nach D. van Slyke¹⁾. Im Vergleich mit der Formoltitrierung erhielten wir nach van Slykes Methode bei dem Harn konstantere und genauere Resultate. Der Harn wurde zur Aminosäurebestimmung genau nach van Slykes Vorschrift behandelt²⁾. 150 ccm Harn wurden mit 5 ccm H_2SO_4 bei $175^{\circ} 1\frac{1}{2}$ Stunden im Autoklaven erhitzt, dann mit überschüssiger $Ca(OH)_2$ so lange gekocht, bis die Dämpfe Lackmus nicht mehr bläuten. Sodann wurde filtriert, der Niederschlag mit heißem Wasser gründlich ausgewaschen, das Filtrat auf wenige Kubikzentimeter eingedampft, in einem 50-ccm-Meßkolben von dem $CaCO_3$ abfiltriert und bis zur Marke aufgefüllt und je 10 ccm zu Aminosäurebestimmungen nach van Slyke genommen.

Es wurden stets Parallelbestimmungen ausgeführt, die gewöhnlich auf 0,1 ccm gleich $\frac{1}{20}$ mg N_3 stimmten.

In den Faeces wurde der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl, nachher das Reinprotein nach Barnstein bestimmt. Im Filtrat der Barnstein-Fällung wurden nach Vertreiben des NH_3 , Neutralisation, Eindampfen und Auffüllen auf 50 ccm ebenfalls in je 10 ccm der Lösung Aminosäurebestimmungen nach van Slyke ausgeführt.

Als Grundfutter verfütterten wir Mais — 50 g pro Tag —, dem wir nachher eine aminosäurereiche entzuckerte Melasse mit einem Gesamtstickstoffgehalt von $6,48\%$ zugaben. Die verdünnte Melasse wurde zu diesem Zwecke, wie dies in einer

¹⁾ Donald D. van Slyke, The quantitative Determination of aliphatic Aminoproups. II. Journ. of Biolog. Chem. 12, 272.

²⁾ Donald D. van Slyke, Eine Methode der aliphatischen Aminosäuren, einige Anwendungen derselben in der Chemie der Proteine des Harns und der Enzyme. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, III, 3170.

anderen Arbeit ausführlich beschrieben werden soll, mittels $\text{Ba}(\text{OH})_2$, nachher mit CO_2 und H_2SO_4 behandelt und das Filtrat im Vakuum bei niedriger Temperatur bis zur Sirupkonsistenz eingedampft. Die Aminosäurebestimmungen nach van Slyke in der auf diese Weise hergestellten Melasse gaben jedoch nur 0,8% Stickstoff, also bloß 12,30% des Gesamtstickstoffes. Die Ursache ist in dem hohen Betaingehalt der Melasse zu suchen, auf das die salpetrige Säure nicht mehr spaltend einwirkt und das derart dieser Bestimmung entgeht.

Den Enten gaben wir zu dem Maisfutter Asparagin bzw. Glykokoll in der Menge von je 2 g täglich. Für Asparagin gibt van Slynkes Methode, wie bekannt, bloß die Hälfte des Gesamtstickstoffes, indem der Amidstickstoff des Asparagins auf salpetrige Säure nicht wirkt. Wir erhielten im Mittel von drei gut übereinstimmenden Bestimmungen 10,50% N nach van Slyke, als Gesamt-N nach Kjeldahl 21,20% (der theoretische N-Gehalt ist 21,28%). Glykokoll gibt nach van Slyke stets höhere Werte zufolge einer tiefer gehenden Zersetzung¹). Wir erhielten im Mittel 20,05% N statt 18,61% N. Letzteren Fehler nahmen wir bei den nach Glykokollverfütterung erhaltenen Resultaten in Korrektur. Als Kjeldahl-N erhielten wir 18,61% (theoretischer Wert 18,69%).

II.

N-Ausscheidung im Harn.

Unsere Versuchsergebnisse sind in der folgenden Tabelle enthalten.

Aus den angeführten Daten ergibt sich, daß der Harn der Enten und Hühner auch bei reiner Maisfütterung stets Aminosäuren enthält, deren tägliche Menge Schwankungen unterworfen ist: im Mittel von 3 Tagen bei Ente I 19 mg, bei Ente II 17 mg Aminosäurestickstoff, was bei Ente I 2,92%, bei Ente II 2,72%, im Mittel 2,8% des täglich im Harn ausgeschiedenen Gesamtstickstoffes ausmacht. Bei den Hühnern sind die Unterschiede größer: es beträgt der Aminosäure-N bei dem Huhn I im Mittel 22 mg = 4,2%, beim Huhn II 20 mg = 3,2% des Gesamt-N.

¹) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, Bd. V, 2, S. 1002.

Tabelle I.

Futter	Datum	a Aminosäure-N im Harn pro Tag g	b Gesamt-N im Harn pro Tag g	$\frac{a}{b} \times 100^1)$
50 g Mais täglich	Ente I.			
	13. III./10	0,016	0,577	2,80
	13. III./12	0,020	0,701	2,84
	13. III./15	0,021	0,661	3,13
	Mittel	0,019	0,646	2,92
	Ente II.			
	13. IV./1	0,018	0,610	2,92
	13. IV./5	0,017	0,639	2,72
	13. IV./6	0,015	0,593	2,53
	Mittel	0,017	0,614	2,72
	Huhn I.			
	13. III./20	0,023	0,527	4,29
	13. III./23	0,021	0,527	4,00
	Mittel	0,022	0,527	4,15
	Huhn II.			
	13. IV./6	0,021	0,767	3,29
	13. IV./8	0,021	0,646	3,36
	13. IV./12	0,020	0,616	3,43
	13. IV./15	0,017	0,576	2,90
	Mittel	0,020	0,651	3,24
48,5 g Mais + 2 g Asparagin	Ente I.			
	13. III./20	0,029	1,114	2,59
	13. III./22	0,026	1,072	2,42
	Mittel	0,027	1,093	2,50
	Ente II.			
	13. IV./15	0,023	1,063	2,21
	13. IV./20	0,023	1,098	2,10
	Mittel	0,023	1,081	2,15
48,5 g Mais + 2 g Glykokoll	Ente I.			
	13. IV./2	0,044	1,023	4,27
	13. IV./5	0,041	0,957	4,26
	Mittel	0,042	0,990	4,26
	Ente II.			
	13. IV./27	0,033	1,034	3,15
	13. IV./29	0,036	1,045	3,43
	Mittel	0,034	1,039	3,30

¹⁾ Aminosäurequotient.

Tabelle I (Fortsetzung).

Futter	Datum	a Aminosäure-N im Harn pro Tag g	b Gesamt-N im Harn pro Tag g	$\frac{a}{b} \times 100$
46 g Mais + 4 g Melasse- aminosäuren		Huhn I.		
	13. III./27	0,023	0,716	3,27
	13. III./30	0,024	0,767	3,08
	Mittel	0,024	0,742	3,18
		Huhn II.		
	13. IV./22	0,021	0,814	2,52
	13. IV./25	0,024	0,632	3,84
	13. IV./27	0,022	0,875	2,98
	Mittel	0,022	0,732	3,11

Nach Aminosäurezufuhr erhöht sich der nach van Slyke bestimmbare Aminosäure-N im Harn der Enten und Hühner. Ebenso, nur in weit größerem Maße, erfolgt dabei auch eine Zunahme des Gesamt-N. Aus diesen Erhöhungen bzw. aus den Veränderungen des Aminosäurequotienten läßt sich auf ein Zersetzen der einzelnen Aminosäuren folgendermaßen schließen:

Bei Ente I erhöht sich nach Asparaginzufuhr der Gesamt-N pro Tag (im Mittel von 3 Tagen) von 0,646 g auf 1,093 g, d. h. um 0,447 g; der Aminosäure-N von 0,019 g auf 0,027 g, d. h. um 0,0085 g, während der Aminosäurequotient von 2,92 auf 2,50 sinkt.

Da der Aminosäurequotient des reinen Asparagins (van Slyke-N zu Kjeldahl-N) 50,0 beträgt¹⁾, würde im Falle, daß das gesamte resorbierte Asparagin im Organismus oxydiert wird, bloß im Gesamt-N eine 0,447 g betragende Erhöhung erfolgen, während die Menge des Aminosäure-N unverändert bliebe. Der Quotient würde dabei von 2,92 auf 1,72 sinken. Wenn dagegen das gesamte Asparagin im Harn unzersetzt ausgeschieden wird, entspricht einer 0,477 g Gesamt-N-Erhöhung eine van Slyke-Aminosäure-N-Erhöhung von 0,223 g. Der Quotient würde dabei von dem ursprünglichen 2,92 auf 22,17 steigen.

¹⁾ Indem, wie schon erwähnt, nur die Hälfte des Asparagin-N, d. h. nur der Aminosäure-N nach van Slyke bestimmbar ist.

Nachdem wir aber bei einer 0,447 g betragenden Gesamt-N-Erhöhung bloß eine 0,0089 g betragende Aminosäure-N-Zunahme fanden, ergibt sich, daß von dem resorbierten Asparagin-N bloß 3,80% unzersetzt sind, während 96,20% bloß im Gesamt-N erscheinen. Diesem 3,80%igen unzersetzten Asparagin entspricht die geringe Abnahme des Quotienten von 2,92 auf 2,50.

Bei Ente II ergeben sich ähnliche Verhältnisse. Während der Gesamt-N nach Asparaginzufuhr pro Tag im Mittel um 0,467 g gestiegen ist, erfolgt im Aminosäure-N eine Erhöhung um 0,006 g. Der Aminosäurequotient sinkt dabei von 2,72 auf 2,15, also in etwas größerem Maße als bei Ente I. Nach ähnlichen Überlegungen als bei Ente I ergibt sich, daß von der Gesamt-N-Erhöhung nur 2,58% auf van Slyke-N, d. h. nicht oxydiertes Asparagin entfallen.

Bei Glykokollfütterung steigt bei Ente I der Gesamt-N im Mittel pro Tag um 0,344 g, der Aminosäure-N im Mittel um 0,023 g. Der Aminosäurequotient von 2,92 auf 4,26.

Würde das Glykokoll vollständig unzersetzt ausgeschieden werden, so müßte einer 0,344 g Gesamt-N-Zunahme eine 0,344 g Aminosäure-N-Zunahme entsprechen, da der Aminosäurequotient des reinen Glykokolls 100 ist. Der Aminosäurequotient des Harns würde dabei von 2,72 auf 36,66 steigen. Bei einer vollständigen Zersetzung des Glykokolls hingegen würde er 1,92 betragen. Demgegenüber entspricht der gefundenen 0,023 g Aminosäure-N-Zunahme eine Erhöhung des Quotienten von 2,72 auf 4,26, d. h. nur 6,69% des resorbierten Glykokolls werden im Harn unzersetzt ausgeschieden.

Bei Ente II steigt nach Glykokollzufuhr der Gesamt-N um 0,425 g, der Aminosäure-N um 0,017 g, der Quotient von 2,72 auf 3,30. Aus diesen Werten berechnet ergibt sich, daß 4,12% der Gesamt-N-Zunahme dem unzersetzten Glykokoll entstammen, während der andere 95,88% betragende Teil dem zersetzten Glykokoll entspricht.

Bei Melassezufuhr steigt bei Huhn I im Mittel der Gesamt-N pro Tag um 0,215, der Aminosäure-N um 0,002 g; der Quotient hingegen sinkt von 4,15 auf 3,18. Da von dem Melasse-N infolge seines Betaingehaltes nur 12,30% nach van Slyke bestimmbar waren, so würde bei einer vollständigen Zersetzung dieser übrigen Aminosäuren der Quotient von 4,15

auf 2,93 sinken. Werden die neben Betain vorhandenen Aminosäuren demgegenüber vollständig unzersetzt ausgeschieden, so steigt der Quotient von 4,15 auf 6,47. Da bei einer vollständigen Zersetzung der Gesamt-N-Erhöhung (0,215 g) nur 12,30%, d. h. 0,026 g auf Aminosäure-N entfallen, so entspricht dem gefundenen 0,002 g van Slyke-Aminosäure-N 7,69% unzersetzte Melasseaminosäure.

Bei Huhn II steigt ebenfalls bei Melassefütterung der Gesamt-N um 0,205 g, der Aminosäure-N um 0,001 g; der Quotient sinkt von 3,24 auf 3,11. Dementsprechend entfallen von der gesamten N-Erhöhung 4,0% auf unzersetzte Melasseaminosäuren.

III.

Ausnützung der Aminosäuren im Darmkanal.

Tabelle II.

Tageswerte. Faeces.

	Futtermenge	a Amino- säure- N g	Gesamt- N g	Rein- protein- N g	b Nicht- eiweiß- N g	$\frac{a}{b} \times 100^1)$
Ente I	50 g Mais	0,010	0,106	0,075	0,031	32,9
Ente II		0,010	0,117	0,070	0,037	35,4
Ente I	48 g Mais	0,010	0,113	0,077	0,035	27,6
Ente II	+ 2 g Asparagin	0,010	0,116	0,079	0,037	25,6
Ente I	48 g Mais	0,028	0,155	0,093	0,062	44,7
Ente II	+ 2 g Glykokoll	0,024	0,111	0,073	0,039	62,3
Huhn I	50 g Mais	0,013	0,101	0,086	0,015	87,3
	46 g Mais	0,016	0,173	0,115	0,058	27,3
	+ 4 g Melasse					

Nach Tabelle II enthält der Kot der Enten und Hühner auch bei reiner Maisfütterung nach van Slyke bestimmbare Aminosäuren. Ähnlich wie der Harn weist auch der Kot der Hühner einen etwas höheren Gehalt an Aminosäuren auf als jener der Enten bei Maisfutter.

Nach Asparaginzufuhr bleibt die Gesamt-N-, Nichteiweiß-N- und van Slyke-N-Menge des Kotes innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler unverändert, welcher Umstand auf eine voll-

¹⁾ Aminosäurequotient.

ständige Resorption des Asparagins hinweist. Die geringe Abnahme des Aminosäurequotienten (van Slyke-Aminosäure-N zu Nichteiweiß-N) im Mittel der beiden Enten von 34,5 auf 26,6 ist bei den geringen absoluten Mengen auf Versuchsfehler zurückzuführen.

Bei Glykokollzufuhr steigt hingegen der Gesamt-N, der Nicht-eiweiß-N und der Aminosäure-N¹⁾. Der Aminosäure-N steigt dabei relativ mehr als der Nicht-eiweiß-N, was eine Erhöhung des Quotienten zur Folge hat und auf eine im Magendarmkanal der Resorption entgangene Glykokollmenge schließen läßt.

Bei Melassezufuhr steigt bei Huhn I ebenfalls der Gesamt-N, Nicht-eiweiß-N und Aminosäure-N, was ebenfalls für unresorbierte Melasse spricht. Die dabei paradox erscheinende Abnahme des Quotienten von 87,3 auf 27,3 kann damit erklärt werden, daß der nach van Slyke bestimmbare N, wie schon erwähnt, bei Melasse bloß 12,30% des gesamten N ausmacht, während der Nicht-eiweiß-N den gesamten nicht resorbierten Melasse-N (nach Kjeldahl bestimmt) enthält. Rechnet man zu den gefundenen 12,3% = 0,003 g noch die nicht bestimmten 87,7% dazu, so ergibt dies 0,025 g, so daß dann der Gehalt an Gesamtaminosäure-N (0,013 + 0,025) gleich 0,038 g beträgt. Stellen wir diesen Wert in Beziehung zu dem Nicht-eiweiß-N, so erhalten wir als Quotient statt 27,3 65, der dem Wert bei reinem Maisfutter nahe steht. Aus diesem Verhältnis ergibt sich, daß ein Teil des Melasse-N unresorbiert bleibt und daß dieser nicht resorbierte Teil unzersetztes Betain ist, das der van Slyke-Bestimmung entgeht.

In Tabelle III ist aus den van Slyke-N-Werten der zugeführten Aminosäuren, des Kotes und des Harns die Resorption sowie die Zersetzung des Asparagins, Glykokolls und der Melasseamide (ohne Betain) berechnet. Während das Asparagin bei beiden Tieren vollständig resorbiert wird, entgehen vom Glykokoll 4,84% bzw. 3,76%, beim Huhn von der Melasse 9,03% der Resorption im Darmkanal.

Sämtliche resorbierten Aminosäuren werden zum größten Teil im Organismus der Enten und Hühner zersetzt und nur zum geringen Teil unzersetzt im Harn ausgeschieden. So ent-

¹⁾ Mit Ausnahme des Nicht-eiweiß-N bei Ente II, der dieselbe Größe zeigt als bei reinem Maisfutter.

gingen vom resorbierten Asparagin bei Ente I 3,77%, bei Ente II 2,83%, vom Glykokoll bei Ente I 6,50%, bei Ente II 4,75% der Zersetzung. Von den resorbierten Melasseamino-säuren, die van Slyke-N enthalten, wurden bei Huhn I 6,90% unzersetzt im Harn ausgeschieden.

Tabelle III.

Tageswerte.

	Futter	a	b	c	$\frac{100}{c} \times \left(\frac{a}{b} - 1 \right)$	Nicht re- sorbierter Aminosäure- N $\frac{b}{a} \times 100$
		Aminosäure-N im				
		Futter g	Kot g	Harn g		
Ente I	50 g Mais . .	x	0,010	0,019	3,77	
	48,5 g Mais + 2 g Asparagin	x + 0,212	0,010	0,027		
	Differenz . . .	+ 0,212	± 0,0	+ 0,008		
Ente II	50 g Mais . .	x	0,011	0,017	2,83	
	48 g Mais + 2 g Asparagin	x + 0,212	0,009	0,023		
	Differenz . . .	+ 0,212	- 0,002	+ 0,006		
Ente I	50 g Mais . .	x	0,010	0,019	6,50	4,84
	45 g Mais + 2 g Glykokoll	x + 0,372	0,028	0,042		
	Differenz . . .	+ 0,372	+ 0,018	+ 0,023		
Ente II	50 g Mais . .	x	0,010	0,017	4,75	3,76
	48 g Mais + 2 g Glykokoll	x + 0,372	0,024	0,034		
	Differenz . . .	+ 0,372	+ 0,014	+ 0,017		
Huhn II	50 g Mais . .	x	0,013	0,020	6,90	9,08
	46 g Mais + 4 g Melasse .	x + 0,032	0,016	0,022		
	Differenz . . .	+ 0,032	+ 0,003	+ 0,002		

Vergleichen wir diese Werte mit den früher aus den Aminosäurequotienten des Harns berechneten Werten, so finden wir in jedem Fall ein vollkommenes Übereinstimmen. Das Übereinstimmen mit den aus dem Verhältnis von Aminosäure-N zu Nichteisweiß-N berechneten Werten gibt zugleich auch einen Beweis dessen, daß die resorbierten Aminosäuren im Organismus nicht zurückgehalten werden, da ihre Oxydationsprodukte im Harn quantitativ wieder zu finden sind.

Refraktions- und Dispersionsbestimmungen an Fetten und Ölen.

Von

K. Szalágyi.

(Aus der Kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation in Budapest.
[Vorstand: F. Tangl.])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Zur Durchführung dieser Untersuchungen, die ich auf Anregung des Herrn Prof. F. Tangl unternommen habe, führte mich der Gedanke, ob und in welchem Maße die verschiedenen Fette und Öle durch ihre Dispersionswerte besser beurteilt werden könnten, und ob zwischen den Refraktions- und Dispersionswerten ein gesetzmäßiger Zusammenhang besteht, der beim Nachweis einer Verfälschung benutzt werden könnte.

Während der Brechungsindex einer Substanz sich nur auf einen Lichtstrahl mit bestimmter Wellenlänge bezieht, gibt die Dispersion über den Unterschied der Brechungskoeffizienten von Strahlen mit verschiedener Wellenlänge Aufklärung. Die Dispersion ist zum Teil von der Refraktionsgröße unabhängig und in erster Reihe von dem chemischen und physikalischen Zustande des lichtbrechenden Mediums bedingt. Es gibt eine totale und partielle, eine absolute und relative Dispersion.

Während die totale Dispersion die Brechungsunterschiede der im sichtbaren Teile des Spektrums zueinander am entferntesten stehenden Lichtstrahlen angibt, bezieht sich die partielle Dispersion auf den Brechungsunterschied zweier beliebiger, zueinander näher oder entfernter stehender Lichtstrahlen. Die relative Dispersion gibt über das Verhältnis, das zwischen Dispersion und Refraktion besteht, Aufklärung, indem dabei die totale oder partielle Dispersion mit dem Brechungsindex eines Strahles (gewöhnlich D) verglichen wird.

Bei meinen Bestimmungen benutzte ich zum Teil käufliche Fette und Öle, zum Teil verwendete ich (beim Rinder-, Schweine-, Gänsefett und Butter) im Laboratorium geschmolzene bzw. dargestellte Proben. Die Bestimmungen wurden mit dem Pulfrichschen Refraktometer ausgeführt. Bei den Dispersionsbestimmungen benutzte ich als Lichtquelle das Hydrogenspektrum bzw. dessen H_{α} - und H_{β} -Strahlen. Die H_{γ} -Strahlen waren in den meisten Fällen nicht deutlich sichtbar, weshalb ich deren Werte in der weiteren Zusammenstellung nicht mitteilte. Das H-Spektrum wurde mit dem sekundären Strom eines mittelgroßen Rummkorffschen Induktors mittels Geißlerschen Röhren dargestellt. Die D-Strahlen erzeugte ein gewöhnlicher NaCl-Brenner. Die Refraktions- und Dispersionswerte wurden mit Hilfe der zum Apparat gehörenden Tabellen berechnet. Ich benutzte Prisma Ia des Apparates, dessen Brechungsindex $n_D^{20} = 1,62100$, seine Dispersion $C - D = 0,00488$, $D - F = 0,01227$ war.

Als Kontrolle bestimmte ich das Brechungsvermögen des Wassers, für das ich bei 18° $n_D^{18} = 1,33315$ fand. Die Bestimmungen an Fetten und Ölen wurden bei 45° ausgeführt. Da die Dispersion ebenso wie die Refraktion eine Funktion der Temperatur ist, wurde zur genauen Einhaltung der Temperatur mittels der dem Refraktometer von der Firma C. Zeiß beigegebenen Einrichtung beständig ein Wasserstrom von 45° durch den Apparat geleitet.

Vor der Untersuchung wurden die Fette geschmolzen, kurze Zeit im Vakuumtrockenschrank getrocknet, und im Falle sie nicht genügend klar und durchsichtig waren, durch ein Filter filtriert.

Nachstehendes Beispiel zeigt die Dispersionsberechnung an einer häuslich dargestellten Butterprobe.

Temperatur $45,1^{\circ}$. Nullpunkt = $-0^{\circ} 22,6'$.

$$\begin{array}{rcl} \text{Abgelesenes } \alpha_D & \left\{ \begin{array}{l} 45^{\circ} 37' \\ 45^{\circ} 37' \\ 45^{\circ} 37' \end{array} \right\} & \text{Mittel } 45^{\circ} 37' \\ & & + 0^{\circ} 22,6' \\ & & \hline & & 45^{\circ} 59,6' \end{array}$$

$$\begin{array}{rcl} \alpha_D \text{ korr.} & = 45^{\circ} 59,6', \text{ dementsprechend } n_D & = 1,45268 \\ & + \text{Temperaturkorrektion} & 8 \\ & & \hline & & n_D^{45} = 1,45276 \end{array}$$

Dispersion.

D - C		F - D	
I. 0° 31,0'	Mittel 0° 30,0'	1° 18,3'	Mittel 1° 18,2'
II. 0° 28,9'		1° 18,1'	
III. 0° 29,9'		1° 18,2'	

C	F
45° 29,6'	45° 59,6'
— 30,0'	+ 1° 18,2'
$\alpha_C = 45° 29,6'$	$\alpha_F = 47° 17,8'$
1,456 64	1,445 63
— 96	— 78
1,455 68	1,444 85
— 543	+ 13 74
1,450 25	1,458 59
+ 7	+ 11
$n_C^{45} = 1,450 32$	$n_F^{45} = 1,458 70$

D - C
0,002 44F - D
0,005 94

	n_D^{45}	$n_D - n_C$	$n_F - n_D$	$\frac{n_D - n_C}{n_F - n_D}$	$n_F - n_C$	$V = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C}$
1 Cedernöl	1,50570	0,00292	0,00739	0,395	0,01031	49,0
2 Leinöl	1,45928	0,00285	0,00733	0,389	0,01018	45,1
3 "	1,47224	0,00333	0,00701	0,475	0,01034	45,7
4 "	1,47111	0,00273	—	—	—	—
5 Ricinusöl	1,47027	0,00258	0,00646	0,399	0,00904	52,0
6 Lebertran	1,46984	0,00315	0,00673	0,468	0,00988	47,5
7 "	1,46949	0,00277	0,00693	0,400	0,00970	48,4
8 Lavendelöl	1,46084	0,00287	0,00666	0,431	0,00953	48,3
9 Baumwollsaamenöl	1,46394	0,00299	0,00654	0,457	0,00953	48,7
10 Hanföl	1,46889	0,00289	0,00673	0,429	0,00962	48,7
11 Arachisöl	1,46444	0,00305	0,00644	0,473	0,00949	48,9
12 Rapsöl	1,46553	0,00264	0,00669	0,394	0,00933	49,9
13 Sesamöl	1,46429	0,00299	0,00633	0,472	0,00932	49,8
14 "	1,46398	0,00260	0,00657	0,396	0,00917	50,6
15 Ricinolsäure	1,46393	0,00246	0,00624	0,394	0,00870	53,3
16 Olivenöl	1,46032	0,00300	0,00611	0,491	0,00911	50,5
17 "	1,46040	0,00244	0,00633	0,385	0,00877	52,5
18 Gänseeschmalz	1,45831	0,00234	0,00611	0,383	0,00845	54,2
19 "	1,45786	0,00244	0,00614	0,397	0,00858	53,3
20 Margarin fett	1,45833	0,00258	0,00609	0,424	0,00867	52,9
21 Käuf. Schweinefett	1,45753	0,00295	0,00587	0,502	0,00882	51,9
22 " "	1,45719	0,00242	0,00604	0,401	0,00846	54,0
23 " "	1,45716	0,00247	0,00571	0,432	0,00818	55,9
24 Häusl. ausgeschmolzenes Schweinefett	1,45731	0,00285	0,00593	0,481	0,00878	52,1
25 Zentrifugenöl	1,46291	0,00248	0,00575	0,431	0,00823	56,2
26 Rindertalg	1,45469	0,00246	0,00585	0,421	0,00826	54,9
27 "	1,45456	0,00242	0,00573	0,422	0,00815	55,8
28 Käuf. Butter	1,45296	0,00229	0,00555	0,413	0,00784	57,6
29 " "	1,45226	0,00253	0,00575	0,440	0,00828	54,6
30 " "	1,45246	0,00260	0,00579	0,449	0,00839	54,2

		n_D^{45}	$n_D - n_C$	$n_F - n_D$	$\frac{n_D - n_C}{n_F - n_D}$	$n_F - n_C$	$V = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C}$
31	Landbutter	1,45236	0,00232	0,00588	0,395	0,00820	55,2
32	Häusl. dargestellte Butter	1,45276	0,00244	0,00594	0,411	0,00838	54,0
33	do.	1,45296	0,00245	0,00569	0,431	0,00814	55,5
34	Dänische Butter .	1,45213	0,00233	0,00597	0,390	0,00830	54,4
35	Erucasäure	1,45336	0,00241	0,00614	0,392	0,00855	53,0
36	Cocosfett	1,44746	0,00244	0,00535	0,456	0,00789	60,5
37	Margarinbutter . .	1,44606	0,00239	0,00593	0,403	0,00832	53,6
38	Elaidinsäure . . .	1,44986	0,00258	0,00609	0,424	0,00867	52,0

Vorstehende Tabelle enthält die Refraktions- und Dispersionswerte der untersuchten 38 Fett- und Ölproben. Die Werte sind der Refraktions-Größenordnung nach zusammengestellt. Es ergibt sich, daß weder die Refraktions- noch die Dispersionswerte der einzelnen Fett- und Ölproben von konstanter Größe sind; die Schwankungen sind bei den einzelnen Fettarten verschieden groß und auf verschiedene Zusammensetzung, Darstellung und Alter der einzelnen Proben zurückzuführen.

Die Refraktionswerte der untersuchten 23 verschiedenen Fett- und Ölproben schwanken zwischen 1,5057 und 1,44606. Die größten Werte zeigt das Cedernöl, die kleinsten das Margarin. Die Dispersionswerte folgen im allgemeinen den Refraktionswerten, ohne daß sich dabei eine deutliche Gesetzmäßigkeit ergeben würde.

Zwischen der Refraktion und der partiellen Dispersion ($n_D - n_C$) ist ein Zusammenhang schwer festzustellen, teils wegen der kleinen Werte dieser Dispersion, die dementsprechend mit den größten Versuchsfehlern behaftet sind, teils infolge ihrer relativ geringen Veränderlichkeit. Der maximale Wert von ($n_D - n_C$) wird bei Leinölprobe Nr. 3 (0,00333) erreicht, deren Refraktion ihrer Größe nach an zweiter Stelle steht, der kleinste Wert (0,00229) bei Butterprobe Nr. 28, deren Refraktion 1,45296 beträgt. Die übrigen Werte schwanken zwischen diesen beiden Werten; im allgemeinen nehmen sie mit den Refraktionswerten ab.

Die Werte der partiellen Dispersion ($n_F - n_D$) sind größer als die von ($n_C - n_D$); sie zeigen auch eine größere Veränderlichkeit bei den verschiedenen Fetten und stehen auch mit

der Refraktion in besserem Einklang. Der maximale Wert 0,00739 wird bei dem Cedernöl mit größter Refraktion erreicht, der kleinste Wert 0,00535 bei dem an vorletzter Stelle stehenden Cocosfett.

Das Verhältnis der beiden partiellen Dispersionen $\frac{n_D - n_C}{n_F - n_C}$ schwankt bei den einzelnen Proben zwischen 0,390 und 0,502, ohne daß sich dabei irgendeine Gesetzmäßigkeit feststellen ließe.

Die totale Dispersion ($n_F - n_C$) zeigt einen deutlicheren Zusammenhang mit der Refraktion. Die Abnahme der Refraktion wird meist von einer deutlicheren Abnahme dieser Dispersion begleitet, doch erfolgt dies auch hier nicht in jedem Falle. Der größte Wert 0,0103 findet sich beim Cedernöl, der kleinste 0,00739 bei dem an vorletzter Stelle stehenden Cocosfett. Die dazwischen stehenden Werte nehmen mit der Refraktion mehr oder weniger kontinuierlich ab, ohne daß sich dabei indessen eine genaue Gesetzmäßigkeit feststellen ließe.

Die relative Dispersion bzw. deren reziproker Wert $V = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C}$ schwankt zwischen 48,3 und 57,8 und ist im allgemeinen bei den stärker brechenden Fetten größer.

Im allgemeinen entspricht der größeren Refraktion eine größere Dispersion, doch gibt es auch Ausnahmen.

Beiträge zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften der alkohollöslichen Proteine des Weizens und Roggens.

Von

Julius Gróh und Gustav Friedl.

(Aus der kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchsstation Budapest.

[Vorstand: Franz Tangl.]

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Bekanntlich bestimmen in erster Reihe die Eiweißkörper (Kleber) die Qualität des Weizenmehles. Es wurden auch zahlreiche Versuche angestellt, um auf Grund der Eigenschaften des Klebers die Qualität des Mehles zu beurteilen, es ist jedoch noch nicht gelungen, dieses praktische Ziel zu erreichen. Wir finden aber auch im Gebiete der rein wissenschaftlichen Arbeiten noch zahlreiche offene Fragen. Auf Grund des Literaturstudiums¹⁾ kommen wir zu der Überzeugung, daß es z. B. durchaus nicht sicher festgestellt ist, ob das alkohollösliche Protein des Weizenklebers ein einheitlicher Körper oder ein Gemisch verschiedener Eiweißstoffe ist.

Daß verschiedene Forscher auf Grund ihrer sehr exakten Arbeiten zu verschiedenen Ansichten gelangten, können wir bloß der Unzulänglichkeit der angewandten Methoden zuschreiben. Zur Identifizierung der auf verschiedenen Wegen hergestellten Eiweißfraktionen wurden hauptsächlich die Elementaranalyse, Qualität und Quantität der hydrolytischen Spaltungsprodukte angewandt. Es ist durchaus möglich, daß namentlich verwandte Eiweißstoffe — und um solche handelt

¹⁾ Wir verweisen auf die sehr ausführliche Literaturzusammenstellung in Asher und Spiros „Ergebn. d. Physiol.“ Bd. 9 und auf die Originalarbeit Th. Osbornes „The proteins of the wheat hernel“, 1907.

es sich hier — mit Hilfe dieser Methoden nicht unterschieden werden können, wohl aber ist es möglich, daß sich die feinen Differenzen dieser Proteinkörper mit Hilfe anderer Methoden entdecken lassen.

Neben den rein chemischen Methoden sind einige physikalisch-chemische und insbesondere kolloidchemische Methoden dazu berufen, in ähnlichen Fragen Aufschluß zu geben. Bei Anwendung der unten beschriebenen physikalisch-chemischen resp. kolloidchemischen Methoden verfolgten wir gleichzeitig zwei Ziele. Erstens trachteten wir festzustellen, ob das alkohol-lösliche Protein des Weizens ein Gemisch oder ein einheitlicher Körper ist, zweitens, in welchem Maße diese angewandten Methoden zur Entscheidung ähnlicher Fragen geeignet sind.

Die angewandten Methoden waren die folgenden:

Viscositätsbestimmung nach Scarpa¹⁾. Es wurde die Viscosität der hergestellten Gliadinfraktionen in KOH-Lösungen bei 20° bestimmt. Bei den angeführten Zahlen ist die Viscosität des Wassers gleich 1.

Bestimmung der Oberflächenspannung nach Traube. Dieselben Lösungen wie oben wurden bei Zimmertemperatur mit dem Traubeschen Stalagmometer untersucht. Die absolute Oberflächenspannung wurde nicht ausgerechnet, da es sich bloß um Vergleichsresultate handelt. Wir führen bloß die Tropfenzahl der Lösungen an, die mit einem Stalagmometer ermittelt wurde, dessen Tropfenzahl für Wasser 45,5 war.

Bestimmung der spezifischen Drehung mit dem Lippich-Landoltschen Polarimeter. Diese Konstante wurde in alkoholischen und KOH-Lösungen für Na-Licht bestimmt.

Bestimmung der Schutzwirkung. Es wurde sowohl die Zsigmondysche²⁾ „Goldzahl“ bestimmt, als auch die von Groh³⁾ ausgearbeitete katalytische Methode angewandt. Die mit Hilfe dieser Methode ermittelten Zahlen bedeuten die Zeit, während der Platinsol für sich oder mit Gliadinlösung geschützt die Hälfte einer gewissen Menge Wasserstoffsuperoxyd zersetzt.

¹⁾ Neuberg, *Der Harn*, Berlin 1911, 2. Bd., S. 1623. — O. Scarpa, *Arch. di Fisiol.* 1908, 375.

²⁾ *Zeitschr. f. anal. Chem.* 40, 697. — Zsigmondy, *Kolloidchemie* 1912, S. 112.

³⁾ Zur Publikation der *Zeitschr. f. physikal. Chem.* eingeschickt.

Platinsol für sich zersetzte die Hälfte des angewandten H_2O_2 in 20 Minuten. Die diesbezüglichen, im Text angeführten Zahlen wurden alle auf einmal und unter denselben Bedingungen ermittelt, sind also miteinander unmittelbar zu vergleichen.

Bestimmung der Refraktion nach Pulfrich. Die Unterschiede, die sich hier ergaben, bewegen sich meistens innerhalb der Fehlergrenzen, weshalb wir diese Resultate gar nicht anführen.

I. Die Homogenität des in 70%igem Alkohol löslichen Kleberproteins. Zwecks Untersuchung dieser Frage stellten wir nach zwei verschiedenen Verfahren aus den alkoholischen Lösungen Fraktionen her.

1. Fraktionierung durch allmähliches Eindampfen. Um etwaiger Denaturierung vorzubeugen, wurde die Anwendung von Säuren, Alkalien und höherer Temperatur immer gemieden. Der Gang der präparativen Arbeit war folgender:

Eine größere Menge frisch gewaschenen Klebers wurde mit 70%igem Alkohol erschöpft. Die trübe gelbe Lösung konnte erst nach heftigem Schütteln mit reiner Weizenstärke klar filtriert werden. Ein Teil dieser Lösung wurde im Vakuum (immer unter 50°) abdestilliert und nun auf 12 bis 24 Stunden in den Eisschrank gebracht, wo sich ein Teil des Gliadins als trübe honigartige Masse abschied. Die dekantierte Flüssigkeit wurde weiter konzentriert und abermals in den Eisschrank gestellt, wo sich eine weitere Fraktion abschied. Diese Prozedur wurde bei den unten angeführten Versuchen öfter wiederholt, bis die Lösung infolge des geringen Alkoholgehaltes nur noch ganz wenig Protein enthielt. Die abgeschiedenen Fraktionen wurden nach Osbornes Vorschrift¹⁾ in wenig 70%igem Alkohol gelöst, in eiskaltes — aber NaCl-freies — destilliertes Wasser gegossen. Das ausgeschiedene Gliadin wurde abermals gelöst und nun in starken Alkohol gegossen. Das jetzt ausfallende Gliadin wurde dann mit absolutem Alkohol und Äther entwässert und über H_2SO_4 im Vakuum getrocknet. Die so erhaltenen Präparate bildeten immer ein überaus leichtes, schwach gelbliches Pulver.

Beim ersten so ausgeführten Versuch stellten wir bloß 2 Fraktionen her. Zur Ausführung der Messungen lösten wir

¹⁾ Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 3, 1, 320.

genau 1,5% trockenes Gliadin in 0,02 n-KOH. Die Viscosität und Oberflächenspannung resp. Tropfenzahl dieser Lösungen war folgende:

	Viscosität	Tropfenzahl
I. Fraktion	1,212	62,0
II. Fraktion	1,210	59,3

Wie ersichtlich, ist nur in der Tropfenzahl ein gewisser, wenn auch nicht großer, aber die Versuchsfehler überschreitender Unterschied zu verzeichnen. Daß zwischen beiden Fraktionen ein Unterschied vorhanden sein muß, ließ sich während der präparativen Arbeit schon mit bloßem Auge feststellen. Die erste Fraktion schied sich im Eisschrank nämlich als eine trübe Honigmasse aus, die sich in 70%igem Alkohol nur trüb löste, obwohl die ursprüngliche verdünnte Lösung klar war. Die zweite Fraktion schied sich hingegen als reiner, durchsichtiger Honig ab.

Bei der folgenden Wiederholung stellten wir aus einer größeren Klebermenge 4 Fraktionen her; die erste Fraktion wurde in 70%igem Alkohol gelöst und nochmals filtriert. Die an diesen Präparaten ausgeführten Messungen (1,5%ige Lösungen in 0,02 n-KOH) waren folgende:

	Viscosität	Tropfenzahl	$[\alpha]_D^{20}$ in 0,02 n-KOH	Schutzkraft		N der Substanz %
				Goldzahl	Halbe Zersetzungszeit Min.	
I. Fraktion	1,250	66,8	— 114	0,060	88	17,42
II. "	1,265	59,6	— 116	0,075	—	—
III. "	1,243	59,4	— 118	0,075	—	—
IV. "	1,216	59,0	— 115	0,075	76	17,50

Stickstoffgehalt und spezifische Drehung differieren nur im Bereich der Versuchsfehler, auch die Viscositätszahlen überschreiten diese Grenze kaum, während die Tropfenzahl, namentlich bei der ersten Fraktion, ganz beträchtlich abweicht. Auf einen vorhandenen Unterschied weist auch die Schutzkraft hin. Es deutet dies darauf, daß in dem vollkommen klaren alkoholischen Kleberextrakt, neben dem Gliadin, noch ein Körper vorhanden ist, der viel schwerer als Gliadin löslich ist und somit zum größten Teil in der ersten Fraktion ausfällt und die physikalischen Konstanten des Gliadins hier stark beeinflußt.

Um diesen K6rper isolieren zu k6nnen, stellten wir aus einer frischen Klebermenge eine abermalige „erste Fraktion“ her. Diesmal trieben wir die erste Konzentration etwas weiter wie gew6hnlich, um die gesamte unbekannte Substanz in der ersten Fraktion zu erhalten, weshalb die zweite und dritte Fraktion nunmehr blo6 reines Gliadin sein konnte. Die erste Fraktion, die gr66tenteils aus Gliadin nebst dem unbekannten K6rper bestand, behandelten wir wiederholt mit kaltem 70%igem Alkohol, wobei das Gliadin der Hauptsache nach in L6sung ging und der in 70%igem Alkohol schwer l6sliche K6rper zur6ckblieb. Diese Substanz konnte nun mit 6ther vollkommen in L6sung gebracht werden, nach deren Filtration und Eindampfen eine wachsgelbe, salbenartige fett6hnliche Substanz zur6ckblieb. Die Analyse ergab einen Prozentgehalt von 0,92 an Stickstoff und 0,6 an Phosphor. Es kann hieraus geschlossen werden, da6 es sich um ein Gemisch lecithinartiger K6rper mit pflanzlichen Fetten handelt.

Diese Tatsache erkl6rt nun sofort, weshalb die Oberfl6chen- spannung der ersten Fraktionen bedeutend niedriger ist. Fette setzen eben in alkalischen L6sungen die Oberfl6chenspannung ganz bedeutend herab. Dieser lecithinartige K6rper l6st sich zwar ausgezeichnet in 6ther, kann aber dem mitgef6llten Gliadin durch blo6e Extraktion nie ganz entzogen werden, weshalb alle unsere ersten Fraktionen diesen K6rper enthielten, wie ihn auch die Pr6parate Osbornes und anderer Forscher enthalten mu6ten, ohne da6 die Elementaranalyse dies merken lie6.

Die zweite und dritte Fraktion dieses Versuches ergab folgende Zahlen:

	1,5 %ige L6sungen in 0,02 n-KOH				[α] _D ²⁰ in 70%igem Alkohol	Gehalt des Pr6parates an	
	Viscosi- t6t	Tropfen- zahl	[α] _D ²⁰	Halbe Zer- setzungszeit		N %	C %
II. Fr.	1,223	59,2	— 115,3	72 Min.	— 91,3	17,49	52,47
III. Fr.	1,212	59,0	— 115,3	78 "	— 91,0	17,57	52,41

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, da6 die beiden Fraktionen unbedingt identisch sind. Es gibt demnach im Kleber nur ein einziges in Alkohol l6sliches Eiwei6, das Gliadin. Wollen wir nun dies Gliadin in seiner reinsten Form herstellen

so müssen wir Osbornes Methode¹⁾ dahin abändern, daß wir die verdünnte, klar filtrierte Gliadinlösung etwas konzentrieren und den im Eisschrank ausfallenden Anteil, der die lecithinartige Masse enthält, abtrennen. Die nächste Fraktion besteht aus reinem Gliadin.

2. Fraktionierung nach König und Rintelen²⁾. Diese Forscher gelangen auf Grund einer größeren Arbeit zu dem Schluß, daß der Kleber drei verschiedene in Alkohol lösliche Proteine enthält: Glutenfibrin, Mucedin und Gliadin. Es schien uns nicht uninteressant, die nach Rintelens Verfahren hergestellten Fraktionen, in derselben Weise wie dies oben geschah, eingehend zu untersuchen.

Eine größere Menge Kleber wurde mit 65%igem Alkohol extrahiert, dann klar filtriert und so viel starker Alkohol hinzugegossen, daß der Alkoholgehalt auf 88% stieg, wobei nach obigen Verfassern Glutenfibrin ausfällt und durch heftiges Schütteln sich derart zu feinen Flocken vereinigt, daß der Niederschlag leicht filtriert werden kann. Trotz heftigen Schüttelns und Abkühlens des Gemisches gelang es uns jedoch nicht, das Gliadin und Mucedin ganz auszuscheiden, die Lösung blieb auch nach der Filtration sehr milchig. Das aus der Lösung separierte Glutenfibrin enthielt daher etwas Gliadin und Mucedin. Der das Gliadin und Mucedin enthaltende Niederschlag wurde nach Angabe der Verfasser getrennt. Die Resultate der an diesen Präparaten ausgeführten Messungen waren folgende:

	1,5%ige Lösung in 0,02 n-KOH				N der Präparate %
	Viscosität	Tropfen- zahl	$[\alpha]_D^{20}$	Halbe Zer- setzungszeit	
„Glutenfibrin“ . .	1,231	69,0	— 116	72 Min.	17,46
„Mucedin“	1,244	60,0	— 115	69 „	17,57
„Gliadin“	1,230	60,0	— 117	61 „	17,52
Reines Gliadin nach eigener Methode .	1,223	59,2	— 115,3	72 „	17,49

Vergleichsweise haben wir in diese Tabelle die Konstanten eines reinen Gliadins aufgenommen. Abgesehen von der Oberflächenspannung der Glutenfibrinlösung finden wir überhaupt

¹⁾ Abderhalden, Bioch. Arbeitsmethoden I. c.

²⁾ Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 8, 401, 1904.

keine Unterschiede, die auf eine Verschiedenheit der drei Fraktionen schließen ließe. Daß die Glutenfibrinlösung gerade in der Oberflächenspannung so abweicht, läßt sich leicht dadurch erklären, daß die lecithinartigen Körper, da sie in starkem Alkohol leichter löslich sind, Gelegenheit hatten, sich gerade hier anzureichern. Diese Versuche bestärken demnach auch die Ansicht, daß das Weizengliadin ein homogener Körper sei.

II. Physikalisch-chemische Eigenschaften des guten und schlechten Klebers. Es ist eine bekannte Tatsache, daß man aus verschiedenen Weizenmehlsorten, unter ganz gleichen Bedingungen, Kleber von verschiedenen Eigenschaften erhalten kann. Es gibt harten und weichen — dehnbaren und rissigen Kleber. Es ist ferner eine praktische Erfahrung, daß sich Mehlsorten, deren Kleber verschieden ist, beim Backen ebenfalls sehr verschieden verhalten. Daher ist es öfter versucht worden, auf irgendwelche Art die Qualität des Klebers zahlenmäßig auszudrücken und hieraus den relativen Wert eines Mehles zu ermitteln. Es schien uns der Mühe wert, zu untersuchen, ob mit Hilfe der angewandten Methoden zwischen dem Gliadin guter und schlechter Weizenkleber irgendein Unterschied nachzuweisen wäre.

Zu diesem Zwecke stellte uns Herr Hankócy, Adjunkt der Pflanzenbauversuchsstation in Magyaróvár, vier Mehlsorten zur Verfügung. Die Qualität dieser Sorten ermittelte er einerseits durch praktische Backversuche, andererseits mit Hilfe seines eigenen, von ihm selbst konstruierten Apparates zur Bestimmung der Kleberfähigkeit¹⁾. Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, daß der auf genau dieselbe Art und Weise hergestellte Kleber irgendeines Mehles mit Hilfe des Apparates zu einer dünnen Haut aufgeblasen wird; der hierzu nötige Druck (Hg mm) und das Volumen der Kleberblase werden auf ein Koordinatensystem aufgezeichnet, wobei die durch die erhaltene Kurve und die Abszisse eingeschlossene Fläche der Qualität des Klebers proportional ist, und zwar ist der Kleber um so besser, je größer diese Fläche ist. Die in der nachstehenden Figur abgebildeten 4 Kleberkurven — Originalien des Herrn Hankócy — beziehen sich auf die von uns untersuchten Mehlproben I bis IV.

¹⁾ Mitteilungen des ung. Ing.- u. Archit.-Vereins, Budapest 1914, Heft 16, 17.

Aus allen vier Mehlsorten stellten wir in der von uns oben angegebenen Weise reines Gliadin her, indem wir die erste Fraktion verwarfen. Die an diesen Präparaten ausgeführten Messungen sind folgende:

Bezeichnung des Mehles	Qualität des Klebers (u. Mehles)	1,5%ige Lösung in 0,02 n-KOH			N-Gehalt der Präparate
		Viscosität	Tropfen-zahl	$[\alpha]_D^{20}$	
I.	} gut	1,267	60,2	-119,6	17,43
II.		1,257	60,0	-117,3	17,39
III.	} schlecht	1,247	58,2	-118,3	17,46
IV.		1,257	58,1	-117,3	17,56

Es ist demnach zwischen dem reinen Gliadin eines guten und schlechten Klebers (resp. Mehles) mit Hilfe dieser Methoden kein Unterschied zu finden. Es ist nun aber auf Grund verschiedener Beobachtungen wahrscheinlich, daß die Qualität eines Klebers der Hauptsache nach durch das Gliadin bestimmt wird. Wir müssen daher annehmen, daß das in ver-

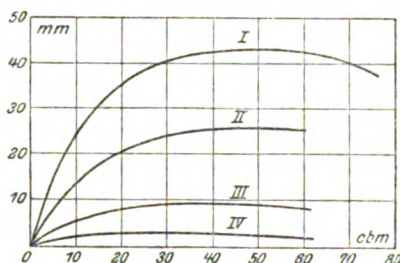


Fig. 1.

schiedenen Mehlsorten vorhandene Gliadin immer dasselbe, aber in kolloidchemisch verschiedenen Zuständen vorhanden ist. Diese Zustandsverschiedenheiten verschwinden jedoch entweder schon während der Herstellung des Präparates oder während des Auflörens in Kalilauge.

Von welchem großem Einfluß der Zustand des Klebers auf die Qualität des Mehles sein kann, beweisen H. Jessen-Hansens Versuche¹⁾. Hansen beweist, daß die Backfähigkeit eines Mehles außerordentlich von der H-Ionenkonzentration des Teiges abhängt. Bei einer gewissen H-Ionenkonzentration ist die Backfähigkeit am besten. Diese Versuche bestätigen die Vermutung, daß die Qualität eines Klebers sehr vom kolloidchemischen Zustand seiner Eiweißkörper abhängt und

¹⁾ Zeitschr. f. d. ges. Getreidewesen 1912, 211.

daß dieser Zustand eine Folge verschiedener Ursachen — wie Ionenkonzentrationen usw. — ist.

III. Über die Identität des Roggen- und Weizengliadins. Diese Frage hat bereits verschiedene Forscher beschäftigt. Am eingehendsten befaßte sich Osborne damit. Ohne ein endgültiges Urteil zu fällen, ist er der Ansicht, daß Roggengliadin mit dem Weizengliadin identisch ist. Zu dieser Ansicht gelangt er, da sowohl Elementaranalyse und Hydrolyse für beide Gliadine identische Werte ergeben; außerdem soll das Roggenmehl ebenso wie das Weizenmehl nur ein einziges alkohollösliches Protein enthalten.

Wir versuchten nun mit Hilfe der angewandten Methoden auch diese Frage näher zu beleuchten. Bei der Herstellung der Roggengliadinpräparate befolgten wir Osbornes Vorschrift, mit der Abänderung, daß wir die alkoholischen Lösungen in kaltes destilliertes Wasser und nicht in NaCl-haltiges Wasser gossen. Schon während der Herstellung des Präparates fiel es auf, daß sich diese Substanz anders verhält als Weizengliadin. Namentlich beim Eingießen der konzentrierten Gliadinlösung in starken Alkohol war eine sehr starke Emulsionierung der Substanz mit Alkohol zu bemerken, und nur ein kleiner Teil fiel als Niederschlag aus. Auch schied sich im Eisschrank fast nie die für Gliadin charakteristische honigartige Masse aus, vielmehr waren hier die Niederschläge gelatinös.

In zwei Fällen separierten wir auch den emulgierenden Anteil und bezeichnen diese Präparate mit dem Namen „Emulsion“. Die diesbezüglichen Messungsergebnisse sind folgende:

Zahl des Präparates	1,5%ige Lösung in 0,02 n-KOH		N-Gehalt des Präparates
	Viscosität	Tropfenzahl	
1.	1,451	65,0	—
„Emulsion“	1,358	67,9	—
2.	1,547	61,5	17,19
„Emulsion“	1,300	66,7	16,92
3.	1,242	61,7	—

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß die Präparate (mit Ausnahme von Nr. 3) nicht nur vom Weizengliadin sehr weit entfernt sind, sondern auch untereinander verschieden sind. Wir sind daher gezwungen anzunehmen, daß diese nach obigem

Verfahren hergestellten Roggengliadine Gemenge verschiedener Substanzen sind.

Um endgültig festzustellen, ob aus Roggenmehl ein mit dem Weizengliadin identisches Gliadin hergestellt werden kann, extrahierten wir abermals 14 kg Roggenmehl mit 70% Alkohol. Aus diesem Extrakt stellten wir ein Rohpräparat nach Osborne — wie oben — her; dieses lösten wir abermals in viel 70%igem Alkohol und filtrierten die Lösung klar. Nun führten wir genau dieselbe Fraktionierungsmethode auch hier durch, die wir beim Weizengliadin anwandten. Die ersten Fraktionen glichen schon ihrem Aussehen nach gar nicht dem Weizengliadin, auch lösten sie sich in 70%igem Alkohol nur sehr schwer und unvollständig wieder auf; erst die 4. und 5. Fraktion war dem Weizengliadin etwas ähnlich, weshalb wir nur diese Fraktionen weiter verarbeiteten. In folgender Tabelle finden sich die diesbezüglichen Messungsergebnisse; vergleichsweise sind auch die Konstanten eines Weizengliadins angeführt.

	1,5%ige Lösung in 0,02 n-KOH				$[\alpha]_D^{20}$ in 70%igem Alkohol	N-Gehalt des Präparates
	Viscosität	Tropf. Zahl	$[\alpha]_D^{20}$	Halbe Zer- setzungszeit		
Roggengl. Fr. IV.	1,375	58,6	— 139,6	72 Min.	— 114	16,82
„ „ V.	1,320	61,3	— 156,6	78 „	—	17,25
Weizengliadin	1,212	59,0	— 115,3	78 „	— 91,0	17,57

Aus diesen Zahlen müssen wir schließen, daß die von uns hergestellten Roggengliadinpräparate untereinander sehr verschieden, also sicher Gemische verschiedener Körper sind. Auffallend ist die bedeutend höhere spezifische Drehung dieser Präparate, weshalb wir, trotzdem unsere Präparate nicht homogen sind, der Meinung sein müssen, daß das Roggengliadin und Weizengliadin verschieden sind. Weitere Untersuchungen sind erwünscht.

Zusammenfassung.

Wir untersuchten das aus Weizenkleber bzw. Roggenmehl in mehreren Fraktionen hergestellte Gliadin mit Hilfe physikalisch-chemischer (kolloidchemischer) Methoden und gelangten zu folgenden Resultaten:

1. Weizenkleber enthält nur ein einziges in Alkohol lösliches Protein: Gliadin.

2. Das aus schlechtem und gutem Weizenkleber hergestellte Gliadin ist identisch.

3. Das aus Roggenmehl extrahierbare Protein ist ein Gemisch mehrerer Eiweißstoffe, deren Isolierung außerordentliche Schwierigkeiten bereitet.

4. Aus dem Roggenmehl gelang es uns nicht, ein mit dem Weizengliadin identisches Präparat zu erhalten.

5. Es ist unwahrscheinlich, daß im Roggen ein mit dem Weizengliadin identischer Proteinkörper überhaupt vorhanden ist.

Stalagmometrische Bestimmung kleiner Hydroxylionen-konzentrationen.

Von

Julius Gróh und Irene D. Götz.

(Aus der kgl. ungar. tierphysiologischen Versuchstation in Budapest.
[Vorstand F. Tangl.])

(Eingegangen am 27. Mai 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

Nach Versuchen von F. G. Donnan¹⁾ wird die Grenzflächen-spannung an der Grenzfläche Öl-Wasser in Gegenwart von Alkalien bedeutend herabgesetzt, und zwar durch die Wirkung jener Seifenschicht, die sich durch Adsorption der Alkalien an dieser Grenzfläche mit den hochmolekularen freien Fettsäuren der Öle bildet. Die experimentellen Beispiele, die Donnan zur Bestätigung dieser Vermutung anführt, beweisen, daß es nur einer sehr kleinen Konzentration der Alkalien bedarf, damit sich die Grenzflächenspannung bedeutend verkleinert, vorausgesetzt, das Öl enthält hochmolekulare freie Fettsäuren. Es schien daher interessant, zu untersuchen, ob diese experimentelle Erfahrung zur genauen Messung sehr kleiner OH-Ionenkonzentrationen angewendet werden kann, und falls dies möglich ist, wie man die Versuchsbedingungen am zweckmäßigsten zu wählen hat und welchen Einfluß die in der Lösung gegenwärtigen übrigen Substanzen haben können.

Bevor wir in eine Beschreibung unserer Versuche eintreten, sei noch erwähnt, daß R. Dubrisay²⁾ diese Empfindlichkeit der Grenzflächenspannung Öl-Wasser gegen Alkalien bei der Titrierung von Säuren gleichsam als Indicator angewendet hat.

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. **31**, 42, 1899.

²⁾ Compt. rend. **156**, 894 bis 898, 1913.

Die Methodik unserer Versuche sei im folgenden beschrieben:

Das Stalagmometer war im wesentlichen nicht sehr verschieden von jenem Donnans, nur hatten wir am oberen Ende keinen Hahn angebracht, und das untere Ende war derart gebogen, daß es in einer Probierröhre Platz hatte. Das Anfüllen mit Öl geschah vom oberen Ende aus durch Saugen, mit besonderer Vorsicht darauf, daß das untere Ende des Stalagmometers weder außen noch innen mit Öl benetzt wurde. Dann wurde das obere Ende mit Kautschukrohr und Quetschhahn verschlossen, das Stalagmometer bis zu konstanter Höhe in die Lösung getaucht, wobei durch Zusammendrücken des Kautschukrohres dafür gesorgt wurde, daß die Öffnung des Stalagmometers bis zu einer geringen Höhe durch die Lösung benetzt wurde, damit sie nicht das Öl benetze und so der Tropfen einen von der unteren Öffnung verschiedenen Durchmesser besitze, was natürlich auf die Größe des Tropfens einen bedeutenden Einfluß hätte. Nach Entfernung des Quetschhahnes wurde die Tropfenzahl einer bestimmten Menge Öles gezählt. Die zur Ausströmung des gesamten Öles nötige Zeit war immer dieselbe, d. h. die Zeit zur Bildung eines Tropfens war je nach seiner Größe verschieden, jedoch immer länger als 3 Sekunden. Der Wert der Grenzflächenspannung wurde nicht ausgerechnet; wir geben immer bloß die Tropfenzahl an.

Als Öl diente Paraffinöl, in dem 0,25% Stearinsäure gelöst waren.

Die Versuche wurden mit zwei verschiedenen Stalagmometern und Ölen ausgeführt; zur Unterscheidung ist bei jeder Versuchsreihe die der Grenzflächenspannung Öl—reines Wasser entsprechende Tropfenzahl angegeben.

Sämtliche Versuche wurden bei einer Temperatur von 25° ausgeführt; zu diesem Zwecke befand sich das die Lösung enthaltende Gefäß in einem gut geregelten Thermostaten.

Da die Grenzflächenspannung Öl-Lösung von der freien OH-Ionenkonzentration der Lösung abhängt, so mußten unsere Lösungen und das zur Verdünnung nötige ausgekochte Wasser vor der Einwirkung der Kohlensäure der Luft geschützt werden; darum wurde die aus metallischem Natrium bereitete Natronlauge, sowie die übrigen Lösungen und das ausgekochte Wasser in mit Natronkalkröhren und mit automatischen Büretten ver-

sehenen Gefäßen aufbewahrt. Bei der Bereitung der zu den Versuchen nötigen Mischungen wurden die Lösungen aus den Büretten in einen (meistens 100 ccm fassenden) Kolben gelassen, wo sie nach der Verdünnung sofort verschlossen wurden. Die mit den Mischungen gefüllten Probierröhren wurden, mit einem Kautschukpfropfen versehen, in den Thermostaten gestellt und erst geöffnet, wenn sie seine Temperatur angenommen hatten, um das Stalagmometer in die Lösung tauchen zu können. Aber auch jetzt blieb die Lösung nur kurze Zeit mit der Luft in Berührung, da sofort nach Beginn des Ausströmens des Öles an der Oberfläche der Lösung sich eine Ölschicht bildet, die sie von der Luft gut abschließt.

Es wurden immer parallele Messungen gemacht, bei denen der Unterschied nie größer als 1 bis 2 Tropfen war.

Die Ergebnisse unserer Messungen seien im folgenden beschrieben:

In erster Reihe wurden Messungen mit reinen NaOH-Lösungen gemacht, die folgende Resultate lieferten:

NaOH-Konz.	$\frac{\text{Mol}}{\text{Lit}}$	Tropfenzahl
0 (reines Wasser)		27,5
$2 \cdot 10^{-4}$		40
$5 \cdot 10^{-4}$		54
$7,5 \cdot 10^{-4}$		63
$10 \cdot 10^{-4}$		71
$13 \cdot 10^{-4}$		82
$20 \cdot 10^{-4}$		100
$25 \cdot 10^{-4}$		114

Diese Ergebnisse sind in Fig. 1 Kurve A auch graphisch dargestellt. Da sie auf eine sehr große Empfindlichkeit der Methode schließen lassen, so wollten wir untersuchen, ob sie auch in jenem Falle brauchbar ist, wo die OH-Ionen der Lösung durch die Hydrolyse des Na-Salzes einer sehr schwachen Säure stammen, oder was das nämliche ist, ob diese Methode zur Messung der Hydrolysenkonstante der Salze, also auch der Dissoziationskonstante dieser Säuren, anwendbar ist.

Da solche Lösungen aber außer den OH-Ionen in größerer Menge auch Metall- (Na) und Säurerest-Ionen enthalten wie auch undissoziierte Molekeln, so mußten wir uns in erster Linie

davon überzeugen, welchen Einfluß diese Bestandteile auf die Messung der OH-Ionen ausüben.

Zu diesem Zwecke wiederholten wir die mit reinen NaOH-Lösungen gemachten Versuche, mit dem Unterschiede, daß die Lösungen außer NaOH auch KCl in verschiedenen Mengen enthielten (siehe die Kurven der Fig. 1).

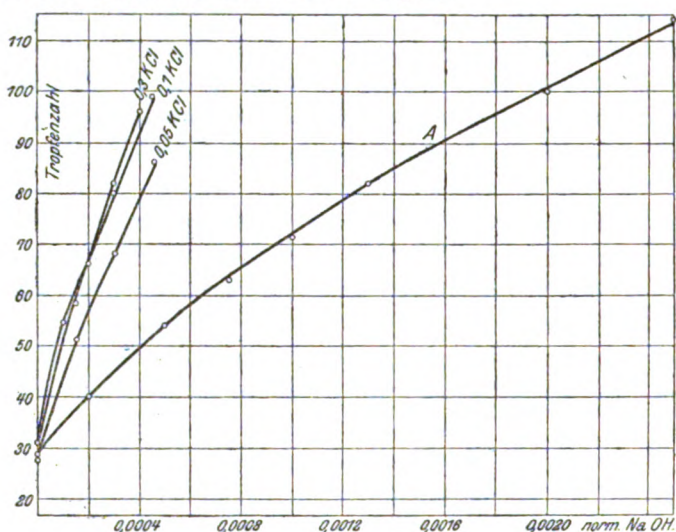


Fig. 1.

Die Zahlenwerte sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I.

NaOH-Konz. $\frac{\text{Mol}}{\text{Lit}}$	Tropfenzahl	
0	29	} Medium 0,05 n-KCl
$1,5 \cdot 10^{-4}$	51	
$3 \cdot 10^{-4}$	68	
$4,5 \cdot 10^{-4}$	86	
0	29	} Medium 0,1 n-KCl
$1 \cdot 10^{-4}$	54,5	
$3 \cdot 10^{-4}$	80	
$4,5 \cdot 10^{-4}$	99	
0	30,5	} Medium 0,3 n-KCl
$1,5 \cdot 10^{-4}$	58	
$2 \cdot 10^{-4}$	66	
$3 \cdot 10^{-4}$	82	
$4 \cdot 10^{-4}$	96	

Es ist hieraus ersichtlich, daß KCl zwar die Grenzflächen-
spannung reines Wasser—Öl kaum beeinflußt (die Anfangspunkte

der Kurven fallen beinahe zusammen), daß aber die Grenzflächenspannung erniedrigende Wirkung des NaOH durch Gegenwart von KCl sehr bedeutend verstärkt wird, wahrscheinlich weil es auf das gebildete kolloidale Natriumstearat irgendeinen Einfluß ausübt¹⁾. Außer der Wirkung des KCl untersuchten wir noch die anderer Salze (wie KNO_3 , K_2SO_4 , NaCl), fanden sie aber kaum verschieden von jener des KCl.

Die Tropfenzahl ist also nicht allein durch die OH-Ionenkonzentration bestimmt, sondern sie wird auch durch andere (im übrigen neutrale) Stoffe beeinflusst. Um nun diese Wirkung so klein als möglich zu machen, lösten wir in jenem Falle, wo wir die OH-Ionenkonzentration einer Lösung eines hydrolysierenden Salzes bestimmen wollten, dieses Salz in einer Lösung, die für KCl 0,3 normal war. Da nämlich, wie aus Fig. 1 ersichtlich ist, jene Kurven, die sich auf eine für KCl 0,1 bzw 0,3 normale Lösung beziehen, sich innerhalb der Versuchsfehler decken, da außerdem, wie wir sahen, die Wirkung der verschiedenen Salze sehr nahe gleich ist, so vermuteten wir, daß die Wirkung des KCl, in oben erwähnter Konzentration angewendet, groß genug sei, um die Wirkung der Bestandteile des hydrolysierenden Salzes (die ohnehin in geringer Konzentration vorkommen) vernachlässigen zu können.

Um uns nun von der Richtigkeit dieser unserer Vermutung zu überzeugen, das heißt um festzustellen, ob in diesen Lösungen die Grenzflächenspannung wirklich nur von der OH-Ionenkonzentration abhängt, stellten wir aus reinen NaOH- und H_3BO_3 -Lösungen drei Serien NaH_2BO_3 -Lösungen her. In der ersten Serie war die Gesamtkonzentration des Na 0,01 Mol, in der zweiten 0,02 und in der dritten 0,05 Mol. Die H_3BO_3 war in jeder einzelnen Lösung dieser drei Serien im Überschuß und ihre Konzentration in jedem Falle so gewählt, daß die Konzentration der freien OH-Ionen zwischen weiten Grenzen variierte. Jede Lösung war außerdem auf KCl 0,3 normal.

¹⁾ Es ist sehr wohl möglich, daß diese Erscheinung im Zusammenhang ist mit jener Wirkung, die Elektrolyte auf die Viscosität der Lösungen von Na-Salzen höherer Fettsäuren ausüben, welche Wirkung bei einer Natriumpalmitatlösung festgesetzt worden ist. Siehe F. D. Farrow, Journ. Lond. Chem. Soc. 101, 347, 1912.

Im Besitze der Dissoziationskonstante der Borsäure¹⁾ konnten wir die OH-Ionenkonzentration der einzelnen Lösungen durch folgende Formel ausrechnen:

$$59500 = \frac{1-x}{(Nx+y)x},$$

wo 59500 die Hydrolysenkonstante des Natriummetaborat bei 25°, x der Hydrolysengrad, N die Konzentration des gesamten NaOH und $N+y$ die Gesamtkonzentration der H_3BO_3 (y also der Überschuß an H_3BO_3), in Molen ausgedrückt, ist.

Die Grenzflächenspannung Öl— NaH_2BO_3 -Lösung wurde dann für jede einzelne Lösung mit einem Stalagmometer, der gegen reines Wasser 49 Tropfen gab, bestimmt.

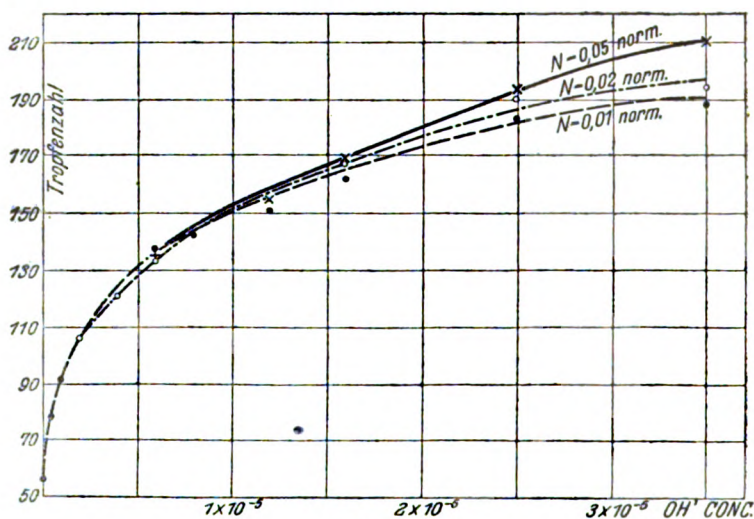


Fig. 2.

Die Zahlenwerte, die sich auf Konzentrationsverhältnisse und Tropfenzahl beziehen, geben wir in Tabelle II an; wir weisen gleichzeitig auf die Kurven der Fig. 2, welche die Verhältnisse auch in ihren quantitativen Beziehungen genau darstellen.

¹⁾ H. Lundén, Journ. Ch. physique 5, 574, 1907 und T. Breitner, Dissoziationskonstante schwacher Säuren. Dissertation, Budapest 1911.

Tabelle II.

Konzentration der OH-Ionen	I. Serie $N = 0,01$		II. Serie $N = 0,02$		III. Serie $N = 0,05$	
	$N + y$	Tropfen- zahl	$N + y$	Tropfen- zahl	$N + y$	Tropfen- zahl
$0,05 \cdot 10^{-5}$	0,3461	78,5	—	—	—	—
$0,1 \cdot 10^{-5}$	0,1781	91,5	—	—	—	—
$0,2 \cdot 10^{-5}$	—	—	0,1881	106,0	—	—
$0,4 \cdot 10^{-5}$	—	—	0,1040	121,0	—	—
$0,6 \cdot 10^{-5}$	0,0380	137,5	0,0760	133,5	0,1900	135,5
$0,8 \cdot 10^{-5}$	0,0310	142,5	—	—	—	—
$1,2 \cdot 10^{-5}$	0,0240	150,5	—	—	0,1200	155,0
$1,6 \cdot 10^{-5}$	0,0205	161,5	0,0410	167,5	0,1025	168,5
$2,5 \cdot 10^{-5}$	0,01668	182,5	0,0334	189,0	0,0836	194,5
$3,5 \cdot 10^{-5}$	0,01475	188,0	0,0296	193,5	0,0740	210,0

Man sieht aus diesen Werten, daß die größte meßbare OH-Ionenkonzentration ($3,5 \cdot 10^{-5}$ normal) bedeutend kleiner ist als bei reinem NaOH ($5 \cdot 10^{-4}$ normal). Diese Erscheinung läßt sich durch die Annahme deuten, daß bei einem hydrolysierenden Salze zwar einerseits die OH-Ionen durch Adsorption zur Bildung des Natriumstearats verbraucht werden, daß sich aber andererseits immer neue Mengen OH-Ionen nachbilden, weil sich das Hydrolysegleichgewicht aufrecht zu erhalten sucht, daß also immer neue Mengen adsorbiert werden können. Daraus ist leicht ersichtlich, warum sich eine hydrolysierende Salzlösung im Vergleich mit einer in bezug auf OH-Ionen gleichkonzentrierten reinen NaOH-Lösung so verhält, als wäre sie an OH-Ionen bedeutend konzentrierter als diese.

Man sieht außerdem, daß sich die drei Kurven nicht decken, was darauf deutet, daß die Tropfenzahl auch hier nicht allein von der OH-Ionenkonzentration abhängt. Den Grund der Verschiedenheit können wir nicht angeben. Es ist möglich, daß wir es mit einer die Grenzflächenspannung verkleinernden Wirkung des Natriummetaborats und des Überschusses an Borsäure zu tun haben, es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß (besonders bei sehr verdünnten Lösungen) an der Tropfengrenzfläche wegen allzu großen Verbrauchs der OH-Ionen eine Hydrolysegleichgewichtsverschiebung stattfindet, oder aber auch, daß die zur Erhaltung des Hydrolysegleichgewichts nötigen zeitlichen Verhältnisse verschieden sind.

Diese störende Wirkung zeigt sich in noch größerem Maße bei dem Natriumacetat, wie aus folgenden Versuchen ersichtlich ist.

Aus umkrystallisiertem essigsauren Natrium und aus Essigsäure bereiteten wir drei Lösungen, die in bezug auf Natriumacetat von verschiedener Konzentration waren (0,05, 0,1 und 0,25 normal), die aber bei 25° die nämliche Menge freier OH-Ionen, und zwar in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ Normalität, enthielten¹⁾. Wenn also die Grenzflächenspannung allein von der OH-Ionenkonzentration der Lösung abhängig wäre, so hätten wir bei diesen drei Lösungen die nämliche Tropfenzahl erhalten müssen. Wir bekamen dagegen drei verschiedene Werte: 89, 96 und 120. Aus Fig 3 ist dagegen ersichtlich, daß wir, wenn die angewandten Hydrolysenkonstanten gut sind und die Grenzflächenspannung allein von der OH-Ionenkonzentration abhängig wäre, in allen drei Fällen 129 Tropfen hätten erhalten müssen.

Die Resultate kurz zusammengefaßt, können wir also sagen, daß die Methode nach Aufnahme einer entsprechenden Kalibrationskurve zur Messung der Konzentration reiner NaOH-Lösungen zwischen $2 \cdot 10^{-4}$ bis $25 \cdot 10^{-4}$ Normalität mit einer für viele Zwecke entsprechenden Genauigkeit brauchbar ist. Wenn gleichzeitig auch neutrale Salze in der Lösung zugegen sind, so ist die Methode empfindlicher und der Messungsbereich liegt zwischen $5 \cdot 10^{-5}$ bis $6 \cdot 10^{-4}$ Normalität. Am empfindlichsten ist die Methode aber, wenn die OH-Ionen als Hydrolysen-spaltungsprodukte zugegen sind, in diesem Falle wirken sie schon in einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-7}$ Normalität bedeutend erniedrigend auf die Grenzflächenspannung; wegen störender Einflüsse aber ist es nicht möglich, die Änderung der Grenzflächenspannung zur Bestimmung der Hydrolysenkonstante anzuwenden.

¹⁾ Als Hydrolysenkonstante des Natriumacetats bedienten wir uns des Wertes $1,675 \cdot 10^{-9}$.

Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. V.

Die Beziehung zwischen physiologischer und physikalisch- chemischer Wirkung der Neutralsalze¹⁾.

Von
L. Berczeller.

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: Franz Tangl.]

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

I.

Seit den epochemachenden Untersuchungen von Hofmeister wurde die Frage sehr oft untersucht, mit welchen physikalischen oder chemischen Eigenschaften der Salze ihre physiologische Wirksamkeit zusammenhängt. Man hat auch sehr viele interessante Beziehungen gefunden und in der letzten Zeit, besonders durch die Arbeiten von J. Traube, gelernt, sie aus einem einheitlichen Gesichtspunkte zu betrachten. Vieles ist aber noch ungeklärt. So z. B. die Beeinflussung der physiologischen Wirksamkeit gewisser Substanzen durch Neutralsalze. Ich will hier nur die erhöhte antiseptische Wirkung von Phenolen usw. (Spiro und Scheurlen²⁾, Spiro und Bruns³⁾, Paul und Krönig⁴⁾, Eisenberg) und die verstärkte Hämolyse durch viele Substanzen bei Gegenwart von Salzen (Eisenberg⁵⁾ erwähnen.

Zunächst suchte man diese Veränderungen damit zu erklären, daß die Salze das physiologische Substrat für die phy-

¹⁾ Der königl. ung. Akad. der Wissensch. am 17. II. 1913 vorgelegt.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1897, Nr. 4.

³⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 41.

⁴⁾ Arch. f. experim. Hygiene 25; Münch. med. Wochenschr. 1897, 12.

⁵⁾ Centralbl. f. Bakt. 69, 313, 1913.

siologisch aktive Substanz zugänglicher machen. Erst in der letzten Zeit wurde darauf hingewiesen, daß diese Wirkung mit den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Lösung in Zusammenhang steht.

Es wurde nämlich beobachtet, daß, wenn in der Lösung oberflächenaktive Substanzen vorhanden waren, die Oberflächenspannung durch Zusatz von Salzen vermindert wird. Die ersten diesbezüglichen Beobachtungen stammen von Traube. Er hat bei wässerigen Alkohollösungen beobachtet, daß in Gegenwart von Salzen die Oberflächenspannung dieser Lösungen kleiner ist als die der salzfreien Lösung. Er hat das allerdings auf die Oberflächenwirkung der Salze zurückgeführt, und betont, daß die Salze in wässerigen und alkoholisch-wässerigen Lösungen ganz verschieden wirken, indem die meisten Salze die Oberflächenspannung des Wassers vergrößern, die des Alkohol- und Wassergemisches aber erniedrigen.

Ähnliche Beobachtungen hat auch Girard mitgeteilt. Er hat gefunden, daß die Oberflächenspannung von Glykocholaten durch Zugabe von Kochsalz erniedrigt wird.

Dasselbe fand auch Bayer, der diesen Befund auch mit der physiologischen Wirkung in Zusammenhang brachte, indem er beobachtete, daß durch Salzzusatz die hämolytische Fähigkeit der glykocholsauren Salze vergrößert wird; gleichzeitig vermindert sich die Oberflächenspannung der Lösungen.

Ich habe mir die Aufgabe gestellt, die physikalisch-chemische Seite dieser Wirkung näher zu untersuchen, da schon eine ganze Reihe der diesbezüglichen physiologischen Tatsachen gefunden wurde, aus denen bereits zu erkennen ist, daß es sich bei diesen Verstärkungen immer um oberflächenaktive Substanzen handelt. Die Beobachtungen bezogen sich in erster Reihe auf stark capillaraktive Substanzen, wie z. B. Glykocholate, Phenol, Kresole usw. Ja, es läßt sich sogar aus ihnen die Gesetzmäßigkeit ableiten, daß je capillaraktiver eine Substanz ist, desto stärker auch die Vergrößerung ihrer Wirkung durch Salzzusatz ist. Als Beispiel führe ich eine Versuchsreihe aus der Arbeit von Eisenberg über Desinfektion an. Kochsalzzusatz verstärkte die Wirkung von Phenol, Natriumglykocholat, Natriumoleat, Pyridin, die alle in hohem Maße oberflächenaktiv sind. Geringer war die verstärkende Wirkung

bei Chloralhydrat, Natriumsalicylat, Alkohol, Aceton, die alle auch weniger oberflächenaktiv sind. Noch schwächer ist die Wirkung auf den noch weniger oberflächenaktiven Formaldehyd, dagegen beobachtet er keine Wirkung auf Sublimat, Harnstoff, KAsO_3 , die auch nicht capillaraktiv sind.

Ich wollte zunächst die Frage entscheiden, inwieweit sich diese Gesetzmäßigkeit verallgemeinern läßt, zu welchem Zwecke ich die verschiedensten capillaraktiven Substanzen untersucht habe. Ich teile nicht alle meine Versuche mit, sondern nur diejenigen mit den Repräsentanten wichtiger Verbindungsgruppen. Ich bemerke noch, daß ich meine Versuche mit dem Traubeschen Stalagmometer ausgeführt habe. Die zahlenmäßigen Ergebnisse der Versuche sind in den folgenden Tabellen zusammengefaßt:

I. Äthylalkohol.

Tabelle I.

Alkohol + Salze.

Tropfenzahl des destillierten Wassers 43,8.

5 n-NaCl	Tropf.-Zahl	3 n-KCl	Tropf.-Zahl	$\frac{1}{2}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Tropf.-Zahl
10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,0	10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,2	10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,4
+ 1 ccm 5 n-NaCl	60,2	+ 1 ccm 3 n-KCl	60,4	+ 1 ccm $\frac{1}{2}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	60,4
+ 2 " "	61,0	+ 2 " "	60,4	+ 3 " " "	59,4
+ 4 " "	61,6	+ 4 " "	60,6	+ 6 " " "	58,4
+ 6 " "	61,6	+ 6 " "	60,4		
+ 8 " "	61,6				

$\frac{1}{2}\text{-NH}_4\text{Cl}$	Tropf.-Zahl	$\frac{1}{2}\text{-AgNO}_3$	Tropf.-Zahl	$\frac{1}{2}\text{-Na}(\text{CH}_3\text{COO})$	Tropf.-Zahl	Dest. Wasser	Tropf.-Zahl
10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,2	10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,4	10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,4	10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96 %igen Alkohol	60,4
+ 2 ccm 96 %igen Alkohol	59,4	+ 1 ccm $\frac{1}{2}\text{-HgNO}_3$	60,0	+ 1 ccm n-Na(CH ₃ COO) .	59,4	—	—
+ 4 ccm 96 %igen Alkohol	58,8	+ 3 " "	59,2	+ 3 ccm n-Na(CH ₃ COO) .	58,0	—	—
+ 6 ccm 96 %igen Alkohol	58,2	+ 6 " "	58,4	+ 6 ccm n-Na(CH ₃ COO) .	56,4	+ 6 ccm destilliert. Wasser	55,6

Meine Versuche bestätigen die Angaben Traubes¹⁾, daß Äthylalkohol stärker die Oberflächenspannung von Salzlösungen

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 20, 2644.

herabsetzt als die von salzfreien Lösungen. In meinen Versuchen habe ich nur die gefundenen Tropfenzahlen angegeben, da sie ohne weiteres auf die Oberflächenspannung schließen lassen. Die Wirkung der Dichte fällt bei meinen Versuchen bei der Berechnung praktisch aus, da ich die Lösungen mit destilliertem Wasser so weit verdünnte, daß der Alkoholgehalt in den Kontrollen gleich war. Ein geringer Einfluß bleibt trotzdem, denn die Erhöhung der Dichte durch Salzzusatz würde die Tropfenzahl vergrößern, wenn die gleichzeitig erfolgende Erhöhung der Oberflächenspannung sie nicht in entgegengesetzter Richtung verändern, d. h. herabsetzen würde.

Ich will das an einem Beispiel zeigen: Setzt man 10%iges NaCl zu einer 27%igen Äthylalkohollösung, so wächst die Tropfenzahl um 12%. Davon fallen 7% auf die Erhöhung der Dichte, die von 0,964 auf 1,031 stieg. Bezieht man aber die Veränderung der Oberflächenspannung der salzhaltigen Alkohollösung nicht auf Wasser, sondern auf gleichkonzentrierte Salzlösung, so beträgt die Erniedrigung der Oberflächenspannung um 4% mehr. (Die Berechnung der Veränderung der Oberflächenspannung der Salzlösung geschah aus den Daten von Volkmann [zit. nach Freundlich, Capillarchemie]¹⁾).

Daraus können wir durch Interpolation das σ der 10%igen NaCl-Lösung 79,82 berechnen. Es ist also um 4% kleiner als das des destillierten Wassers. Es beträgt also die Tropfenzahlerhöhung durch die Erhöhung der Dichte nur ungefähr 3%.

II. Phenol.

Phenol erniedrigt die Oberflächenspannung des Wassers stärker als Alkohol (in gleichen Konzentrationen). Dementsprechend findet sich auch eine größere Wirkung der Salze. Zu den Versuchen wurde 5%ige Phenollösung benutzt, welche ich aus der im Arzneibuch aufgenommenen Acidum carbolicum cristallisatum bereitet habe.

¹⁾ Nach diesen Daten beträgt die Oberflächenspannung von c%igen NaCl-Lösungen:

c	σ (dyn/cm)
0	75,3
6,02	77,26
16,93	79,82

Tabelle II.
Phenol + Salze.
 Tropfenzahl des destillierten Wassers.

5 n-NaCl	Tropf.-Zahl	5 n-NaCl	Tropf.-Zahl	3 n-KCl	Tropf.-Zahl
5 ccm 5%ige Phenollösung	67,2	5 ccm 2,5%ige Phenollösung	57,8	5 ccm 5%ige Phenollösung	67,0
+ 1 ccm 5 n-NaCl	71,0	+ 1 ccm 5 n-NaCl	59,8	+ 1 ccm 3 n-KCl	67,2
+ 2 " "	72,2	+ 2 " "	60,8	+ 3 " "	67,2
+ 5 " "	72,6	+ 4 " "	61,2	+ 5 " "	65,4
+ 10 " "	70,6	+ 5 " "	61,4	+ 10 " "	63,0
+ 15 " "	67,2	+ 10 " "	62,8	+ 15 " "	61,0
+ 20 " "	66,2	+ 15 " "	60,8		

n-NH ₄ Cl	Tropf.-Zahl	Konz. K ₂ SO ₄	Tropf.-Zahl	Dest. Wasser	Tropf.-Zahl
5 ccm 5%ige Phenollösung	67,2	5 ccm 5%ige Phenollösung	67,2	10 ccm 5%ige Phenollösung	67,2
+ 1 ccm n-NH ₄ Cl	66,0	+ 1 ccm n-K ₂ SO ₄	66,4	+ 5 ccm dest. Wasser	57,6
+ 3 " "	63,4	+ 3 " "	64,8	+ 10 " " "	53,4
+ 4 " "	61,4	+ 5 " "	61,8	+ 15 " " "	51,4
+ 10 " "	57,8	+ 10 " "	58,8	+ 20 " " "	50,4
+ 15 " "	55,4	+ 15 " "	56,6		

III. Thymol.

Thymol löst sich in Wasser nur in minimalsten Mengen, aber schon in solchen kleinen Konzentrationen erniedrigt es die Oberflächenspannung des Wassers sehr stark. Ich bin von der heiß gesättigten wässerigen Lösung ausgegangen und habe diese mit Salzlösungen oder entsprechend mit destilliertem Wasser

Tabelle III.
Thymol + Salze.
 Tropfenzahl des destillierten Wassers 43,8.

5 n-NaCl	Tropf.-Zahl	3 n-KCl	Tropf.-Zahl	Dest. Wasser	Tropf.-Zahl
5 ccm konzent. wässerige Thymollösung	68,0	5 ccm gesättigte wässerige Thymollösung	74,2	5 ccm gesättigte wässerige Thymollösung	73,8
+ 1 ccm 5 n-NaCl	72,6	+ 1 ccm 3 n-KCl	74,6	—	—
+ 2 " "	74,2	+ 3 " "	75,4	—	—
+ 3 " "	74,2	+ 5 " "	76,4	+ 5 ccm dest. Wasser	63,4
+ 5 " "	74,8	+ 10 " "	74,8	+ 10 " " "	56,4
+ 10 " "	72,2	+ 15 " "	72,0	—	—
+ 15 " "	71,6	+ 20 " "	70,2	+ 20 ccm dest. Wasser	54,4
+ 20 " "	69,4			+ 25 " " "	53,2
+ 25 " "	68,2			+ 30 " " "	52,0
+ 30 " "	67,6				

verdünnt. Bei Bereitung der Thymollösungen mußte darauf geachtet werden, daß die Lösungen nicht übersättigt bleiben. da die übersättigten Thymollösungen nicht sehr labil sind, Durch längeres Schütteln konnte die Übersättigung aufgehoben werden.

IV. Menthol.

Menthol löst sich in Wasser ebenfalls sehr wenig, aber es erniedrigt die Oberflächenspannung stark. Ich bin von der heiß gesättigten wässerigen Lösung ausgegangen.

Tabelle IV.
Menthollösung + NaCl.

$\frac{1}{1}$ -NaCl	Tropf.-Zahl	Dest. Wasser	Tropf.-Zahl
5 ccm gesätt. wäss. Menthol- lösung	70,4	5 ccm gesätt. wäss. Menthol- lösung	70,2
+ 1 ccm $\frac{1}{1}$ -NaCl	68,4	+ 1 ccm dest. Wasser	67,6
+ 2 " "	67,4	+ 2 " " "	64,4
+ 4 " "	64,8	+ 4 " " "	62,0

V. Campher.

Campher löst sich auch nur in geringen Mengen im Wasser, aber diese Mengen erniedrigen auch stark die Oberflächenspannung.

Tabelle V.

Campher + Salze.			Tropf.-Zahl
Kalt gesätt. wässerige Lösung			63,2
Warm " " "			61,2

$\frac{1}{1}$ -NaCl	Tropf.-Zahl	Dest. Wasser	Tropf.-Zahl
5 ccm ung. gesätt. Campher- lösung	58,8	5 ccm ung. gesätt. wässerige Campherlösung	58,8
+ 1 ccm $\frac{1}{1}$ -NaCl	58,6	+ 1 ccm dest. Wasser	56,4
+ 2 " "	57,4	+ 2 " " "	55,6
+ 4 " "	55,4	+ 4 " " "	53,6
+ 6 " "	54,2	+ 6 " " "	51,4

In letzter Zeit wurde beobachtet (Leo), daß sich Campher in heißem Wasser weniger löst als in kaltem. Das kann man einfach qualitativ dadurch nachweisen, daß man eine kalt gesättigte wässerige Campherlösung erwärmt: es entsteht ein Niederschlag. (Das Sättigen des kalten Wassers mit Campher

kann durch längeres Schütteln geschehen.) Dementsprechend habe ich beobachtet, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, daß die heiß gesättigte Lösung des Camphers die Oberflächenspannung des Wassers weniger vermindert als die kalt gesättigte. Allerdings ist der Unterschied nicht sehr groß. Ich habe meine Versuche mit heiß gesättigten Lösungen angestellt. Auf Zusatz von Salzen wird die Oberflächenspannungserniedrigung, wie in den vorigen Versuchen, kleiner.

VI. Hydrochinon.

5%ige Lösung. Die Resultate entsprechen ganz den vorigen.

Tabelle VI.
Hydrochinon + Salze.

5 n-NaCl	Tropfen- zahl	Destilliertes Wasser	Tropfen- zahl
5 ccm 5%iges Hydrochinon	46,0	5 ccm 5%iges Hydrochinon	46,0
+ 1 ccm 5 n-NaCl . . .	46,6	—	—
+ 3 " " . . .	47,0	—	—
+ 5 " " . . .	47,4	+ 5 ccm destilliertes Wasser	45,4
+ 10 " " . . .	47,2	+ 10 " " "	45,0

VII. α -Naphthol.

α -Naphthol löst sich ziemlich schlecht in Wasser. Es wurde die gesättigte wässrige Lösung benützt. Sie erniedrigt die Oberflächenspannung des Wassers ziemlich stark, dementsprechend ist die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung der Salze viel ausgeprägter als z. B. in vorigem Falle.

Tabelle VII.
 α -Naphthol + Salze.

5 n-NaCl	Tropfen- zahl	3 n-KCl	Tropfen- zahl	Destilliertes Wasser	Tropfen- zahl
5 ccm gesättigte wässrige α -Naphthollösung	56,4	5 ccm gesättigte wässrige α -Naphthollösung	56,2	5 ccm gesättigte wässrige α -Naphthollösung	56,4
+ 1 ccm 5 n-NaCl	59,2	+ 1 ccm 3 n-KCl	56,4	+ 5 ccm dest. Wasser	49,4
+ 3 " "	60,4	+ 3 " "	56,4	+ 10 " " "	46,8
+ 5 " "	59,6	+ 5 " "	56,2	+ 15 " " "	45,6
+ 15 " "	58,0	+ 10 " "	54,4	+ 20 " " "	44,6
—	—	+ 15 " "	53,4	—	—

VIII. Natriumglykocholat und IX. Glykocholsäure.

Meine Versuche bestätigen die Befunde von Bayer¹⁾ an Natriumtaurocholatlösungen und Kochsalz. Auch bei anderen Salzen kann man dieselbe Wirkung beobachten. Hier liegen die Verhältnisse allerdings etwas komplizierter, denn möglicherweise kann die Hydrolyse der Salze mitbeteiligt sein. Ich habe meine Versuche mit einer Natriumglykocholatlösung 1 : 2500 angestellt. Sowohl das Glykocholat wie die Glykocholsäure setzen die Oberflächenspannung des Wassers stark herab, dementsprechend ist die weitere Herabsetzung durch Salzzusatz auch bedeutend.

Tabelle VIII.

Natriumglykocholat und Glykocholsäure + Salze²⁾.

Tropfenzahl des destillierten Wassers 43,8.

5 n-NaCl	Tropfen- zahl	5 n-NaNO ₃	Tropfen- zahl	3 n-KCl	Tropfen- zahl	$\frac{1}{1}$ -Na ₂ SO ₄	Tropfen- zahl
10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,2	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,0	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,2	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,0
+ 2 ccm 5 n-NaCl	60,0	+ 2 ccm 3 n-NaNO ₃	58,6	+ 2 ccm 3 n-KCl	58,2	+ 2 ccm $\frac{1}{1}$ -Na ₂ SO ₄	56,2
+ 5 " "	63,2	+ 5 " "	61,0	+ 5 " "	60,2	+ 5 " "	58,0
+ 10 " "	64,4	+ 10 " "	62,8	+ 10 " "	61,6	+ 10 " "	58,4
+ 15 " "	65,2	+ 15 " "	63,0	+ 15 " "	61,4	+ 15 " "	58,0
+ 20 " "	65,2	+ 20 " "	63,0	+ 5 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	64,6	+ 25 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	60,8
+ 10 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	68,8	+ 5 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	63,2	+ 25 " "	64,4	+ 50 " "	60,8
+ 25 " "	68,6	+ 25 " "	65,4	+ 50 " "	64,2		
+ 100 " "	66,4	+ 50 " "	65,6				

$\frac{1}{1}$ -KNO ₃	Tropfen- zahl	$\frac{1}{1}$ -BaCl ₂	Tropfen- zahl	Destilliertes Wasser	Tropfen- zahl	$\frac{1}{20}$ -HCl	Tropfen- zahl
10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	49,8	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,2	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,4	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykocholatlösung . . .	50,4
+ 2 ccm $\frac{1}{1}$ -KNO ₃	56,4	+ 2 ccm $\frac{1}{1}$ -BaCl ₂	59,2	+ 10 ccm dest. W.	50,2	+ 50 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	59,2
+ 5 " "	57,0	+ 5 " "	58,4	+ 20 " " "	49,4	+ 100 " "	58,8
+ 10 " "	56,4	+ 10 " "	57,6				
+ 25 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	61,4	+ 25 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	60,6				
+ 50 " "	61,2	+ 50 " "	60,4				
+ 100 " "	60,2	+ 100 " "	59,4				

¹⁾ Bayer, diese Zeitschr. 13, 40.²⁾ Der Zusatz von Salzsäure erfolgt immer in dem Gemisch, das im vorangehenden Versuch in jeder Kolumme der Tabelle angeführt ist.

X. Albumose.

Die Lösung war aus käuflichen Witte-Pepton hergestellt, sie war 1⁰/₁₀ig.

Tabelle IX.

Witte-Pepton + Salze.

Tropfenzahl des destillierten Wassers 43,8.

5 n-NaCl	Tropfen- zahl	$\frac{1}{10}$ -KNO ₃	Tropfen- zahl	$\frac{1}{10}$ -(NH ₄) ₂ SO ₄	Tropfen- zahl
5 ccm 1 ⁰ / ₁₀ iges Witte-Pepton	55,8	5 ccm 1 ⁰ / ₁₀ iges Witte-Pepton	55,8	5 ccm 1 ⁰ / ₁₀ iges Witte-Pepton	55,8
+ 2 ccm 5 n-NaCl	57,6	+ 1 ccm $\frac{1}{10}$ -KNO ₃	55,8	+ 1 ccm $\frac{1}{10}$ -(NH ₄) ₂ SO ₄	55,2
+ 5 " "	59,6	+ 3 " "	56,2	+ 4 " "	55,6
+ 7 " "	61,0	+ 5 " "	55,4	+ 8 " "	55,6

XI. Casein.

Die Caseinlösungen (1⁰/₁₀) wurden aus besonders reinem Casein bereitet, das im Institut hergestellt wurde (siehe auch meine Arbeit in dieser Zeitschr. 53, 232). Die Versuche entsprechen vollkommen den vorigen.

Tabelle X.

Casein + Salze.

5 n-NaCl	Tropfen- zahl	5 n-NaCl	Tropfen- zahl
$\frac{1}{10}$ ige Lösung von Büffel-casein	51,6	$\frac{1}{10}$ ige Lösung von Büffel-casein	51,8
+ 100 Tropfen $\frac{1}{10}$ -KOH	49,8	—	—
+ 1 ccm 5 n-NaCl	53,0	+ 1 ccm 5 n-NaCl	56,4
+ 3 " "	54,6	+ 3 " "	57,4
+ 5 " "	55,0	+ 5 " "	57,2
+ 10 " "	55,8	+ 10 " "	57,0

5 n-NaCl	Tropfen- zahl	Destilliertes Wasser	Tropfen- zahl
$\frac{1}{10}$ ige Lösung von Büffel-casein	51,8	$\frac{1}{10}$ ige Lösung von Büffel-casein	51,8
+ 100 Tropfen $\frac{1}{10}$ -HCl	49,2	—	—
+ 1 ccm 5 n-NaCl	53,2	+ 1 ccm destilliertes Wasser	51,2
+ 3 " "	56,2	+ 3 " "	50,0
+ 5 " "	55,6	+ 5 " "	49,2
+ 10 " "	55,6	+ 10 " "	47,8

XII. Alkaloidsalze.

In den angeführten Fällen beobachtete ich bei Salzzusatz immer eine, wenn auch nicht große Erniedrigung der Oberflächenspannung. Allerdings ist diese Erniedrigung viel kleiner als die durch Laugen hervorgerufene (Traube). Man bekommt auch keine größere Erniedrigung der Oberflächenspannung, wenn man vorher durch Laugen die Oberflächenspannung der Alkaloidsalze herabsetzt.

Tabelle XI.
Alkaloidsalze + Salze.

5 n-NaCl	Tropf.-Zahl	$\frac{n}{1}$ -NH ₄ Cl	Tropf.-Zahl
10 ccm 5%iges Atropin-sulfat	45,4	10 ccm 5%iges Atropin-sulfat	45,4
+ 1 ccm 5 n-NaCl	46,2	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ -NH ₄ Cl	45,4
+ 3 " " " "	47,0	+ 3 " " " "	45,6
+ 5 " " " "	47,2	+ 5 " " " "	45,6

K ₂ SO ₄ -Konz.	Tropf.-Zahl	$\frac{n}{1}$ -NH ₄ Cl	Tropf.-Zahl
10 ccm 5%ige Cocain-HCl	44,6	10 ccm 5%ige Cocain-HCl	44,6
+ 1 ccm konz. H ₂ SO ₄ . .	45,6	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ -NH ₄ Cl	45,0
+ 3 " " " "	46,2	+ 3 " " " "	45,2
+ 5 " " " "	46,4	+ 5 " " " "	45,2

Hier spielt aber schon die Hydrolyse der Alkaloidsalze eine bedeutende Rolle. Z. B. kann die durch Laugen erzeugte Erniedrigung der Oberflächenspannung von Alkaloidsalzlösungen auf Zusatz von Ammonsalzen ganz zurückgehen, wie wir das aus der Tabelle ersehen können [Versuche mit (NH₄)₂SO₄].

Tabelle XII.
Alkaloide + Ammoniumsalze.

	Tropfen-zahl		Tropfen-zahl		Tropfen-zahl
10 ccm 5%ige Atropinsulfatlösung	45,2	10 ccm 0,5%ige Atropinsulfatlösung	45,2	10 ccm 0,5%ige Atropinsulfatlösung	45,2
+ 5 Tr. $\frac{n}{10}$ -KOH	53,4	+ 25 Tr. $\frac{n}{10}$ -KOH	61,6	+ 50 Tr. $\frac{n}{10}$ -KOH	61,6
+ 1 ccm 2 n-NH ₄ Cl	45,2	+ 1 ccm 2 n-NH ₄ Cl	45,4	+ 1 ccm 2 n-NH ₄ Cl	61,4
				+ 2 " " "	45,2

Tabelle XII (Fortsetzung).

	Tropf.-Zahl		Tropf.-Zahl
10 ccm 0,5%ige Atropin-sulfatlösung	45,4	10 ccm 0,5%ige Atropin-sulfatlösung	45,4
+ 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ -KOH	53,4	+ 35 Tropfen $\frac{n}{10}$ -KOH	61,4
+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ -(NH ₄) ₂ SO ₄	45,6	+ 1 ccm n-(NH ₄) ₂ SO ₄	47,2
	Tropf.-Zahl		Tropf.-Zahl
10 ccm 0,5%ige Cocain-HCl-Lösung	46,2	10 ccm 0,5%ige Cocain-HCl-Lösung	46,0
+ 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ -KOH	55,8	+ 5 Tropfen $\frac{n}{10}$ -KOH	55,6
+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ -(NH ₄) ₂ SO ₄	47,4	+ 1 ccm 2 n-NH ₄ Cl	46,6

Die Wirkung der Salze auf die Oberflächenspannung der Lösung oberflächenaktiver Stoffe gewinnt noch an Bedeutung, wenn man gleichzeitig die Veränderung der physiologischen Wirksamkeit der oberflächenaktiven Stoffe betrachtet. Zu diesem Zwecke habe ich in der folgenden Tabelle einige Zahlen über die Wirksamkeit der Desinfizientien in Gegenwart von Salzen und die Oberflächenspannungen zusammengestellt. Die letztere habe ich selbst gemessen, die Zahlen über die bactericide Wirkung habe ich der Arbeit von Paul und Krönig und Spiro und Bruns entnommen.

Tabelle XIII.

Phenollösung	Bactericide Wirksamkeit	Oberflächenspannungs-erniedrigung
+ Salzzusatz . . .	größer (K-Salze wirken schwächer als Na-Salze Jodide schwächer als Chloride)	größer (K-Salze wirken schwächer als Na-Salze Jodide schwächer als Chloride)
+ Alkohol	kleiner	kleiner
+ Harnstoff . . .	nicht beeinflußt	nicht beeinflußt

Spiro und Bruns haben gezeigt, daß die bactericide Wirkung des Phenols durch Kochsalz gesteigert wird, durch Harnstoff wird sie nicht beeinflußt, durch Alkohol wird sie vermindert. Die Wirkung auf die Oberflächenspannung ist, wie wir das außer Alkohol schon bei Harnstoff und Kochsalz gesehen haben, vollkommen der Traubeschen Theorie entsprechend. Schon Bechhold hat aber darauf hingewiesen,

daß Phenol in Alkohol (und ebenso in Ölen) gelöst, da ihre Oberflächenspannung geringer ist, eine kleinere Oberflächenspannungserniedrigung hervorruft, und daß die geringere bactericide Kraft damit parallel geht.

Spiro und Bruns¹⁾ haben auch bemerkt, daß Jodide eine etwas schwächere Wirkung auf Phenol ausüben als Chloride; das wird auch durch meine Versuche bestätigt, in denen ich die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung des Kaliumjodids kleiner als die des Kaliumchlorids fand; allerdings sind die Unterschiede in den Oberflächenspannungen ziemlich klein.

Paul und Krönig²⁾ haben zuerst beobachtet, dann wurde es von Spiro und Bruns³⁾ auch bestätigt, daß Na-Salze eine stärkere Wirkung auf Phenol ausüben als Kaliumsalze; damit stimmt es auch überein, daß in meinen Versuchen das NaCl die Oberflächenspannung des Phenols stärker erniedrigt als Kaliumchlorid. Da sind die Unterschiede etwas größer als beim Jodid und Chlorid. (Meine diesbezüglichen Daten sind in Tabelle XIV zusammengestellt.)

Tabelle XIV.
Phenol + NaCl und KCl.

$\frac{1}{1}$ -NaCl	Tropfen- zahl	$\frac{1}{1}$ -KCl	Tropfen- zahl	Destilliertes Wasser	Tropfen- zahl
5 ccm $\frac{1}{1}$ -NaCl . .	44,8	5 ccm $\frac{1}{1}$ -KCl . .	46,0	5 ccm dest. Wasser	43,8
+ 1 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 1 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 1 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)	
Phenollösung . .	57,0	Phenollösung . .	55,4	Phenollösung . .	52,0
+ 2 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 2 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 2 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)	
Phenollösung . .	62,6	Phenollösung . .	60,6	Phenollösung . .	57,4
+ 6 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 6 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 6 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)	
Phenollösung . .	70,2	Phenollösung . .	69,0	Phenollösung . .	67,2
+ 8 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)		+ 8 ccm (ung. 5 $^{\circ}$ / $_{10}$ ige)			
Phenollösung . .	71,4	Phenollösung . .	69,4		

Also in den meisten Versuchen geht die bactericide Kraft und die Erniedrigung der Oberflächenspannung ganz parallel. Dieses Ergebnis war allerdings schon nach den Arbeiten von Traube zu erwarten.

Interessant ist aber die eine Abweichung, die ich bei Natriumbenzoat beobachtet habe. Natriumbenzoat selbst wirkt nämlich viel

¹⁾ l. c.

²⁾ l. c.

³⁾ l. c.

weniger bactericid als die anderen Salze, und dabei erniedrigt es die Oberflächenspannung der Desinfizientien in ebenso großem Maße wie die anderen Salze. Eigentlich wird die Oberflächenspannung der Lösung auf Zusatz vom Natriumbenzoat viel stärker erniedrigt als durch die anderen Salze, da Natriumbenzoat sehr stark die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt; aber wenn wir aus dieser Erniedrigung die des Natriumbenzoats abziehen, dann bekommen wir eine ebenso große Erniedrigung der Oberflächenspannung der capillaraktiven Substanz. Aber eben dieser scheinbare Widerspruch läßt uns einen Schritt weiter gehen, und Einsicht gewinnen, wie die Aufnahme der Desinfizientien durch die Bakterien stattfindet. Das Verhalten des Natriumbenzoats spricht nämlich für die Annahme einer Adsorption [andere weitere Gründe siehe bei Bechhold¹⁾]. Bekanntlich verdrängen mehrere adsorbierbare Körper einander aus der Oberfläche des Adsorbens, auch wenn wir noch dazu nehmen, daß im allgemeinen eine Substanz um so mehr adsorbierbar ist, je mehr sie die Oberflächenspannung erniedrigt; dadurch ist es schon erklärlich, weshalb in Gegenwart von Natriumbenzoat die Desinfizientien weniger wirken. Das Natriumbenzoat wird nämlich auch stark adsorbiert und verdrängt zum Teil die anderen adsorbierbaren bacteriociden Substanzen, und diese Adsorptionsercheinung verursacht es, daß hier die Parallelität nicht besteht.

Tabelle XV.

Die Wirkung von Natriumbenzoatlösungen auf die Oberflächenspannung von Phenollösungen.

I		II	
Natriumbenzoat	Tropfen- zahl	Phenollösung + Natriumbenzoat	Tropfen- zahl
5 ccm destilliertes Wasser	43,8	5 ccm ung. 5%ige Ph.-Lös.	66,4
+ 5 ccm $\frac{1}{1}$ -Na-Benzozat . .	46,8	+ 5 ccm $\frac{1}{1}$ -Na-Benzozat . .	61,8
+ 10 " " . .	48,2	+ 10 " " . .	59,4
+ 15 " " . .	49,0	+ 15 " " . .	58,2
+ 20 " " . .	50,0	+ 20 " " . .	58,0
+ 25 " " . .	50,8	+ 25 " " . .	57,2
			Differenz II-I
			—
			15,0
			11,2
			9,2
			8,0
			6,4

III		IV	
Phenollösung + KCl-Lösung	Tropfen- zahl	Phenollösung + destilliertes Wasser	Tropfen- zahl
5 ccm ung. 5%ige Ph.-Lös.	66,4	5 ccm ung. 5%ige Ph.-Lös.	66,4
+ 5 ccm $\frac{1}{1}$ -KCl	59,8	+ 5 ccm dest. Wasser . .	57,4
+ 10 " "	56,2	+ 10 " " " . .	53,2
+ 15 " "	54,2	+ 15 " " " . .	50,8
+ 20 " "	52,4	+ 20 " " " . .	49,4
+ 25 " "	51,8	+ 25 " " " . .	48,6
			Differenz III-V s (KCl)
			—
			15,7
			12,1
			10,1
			8,0
			7,0

¹⁾ l. c.

III.

Wie ist nun die Wirkung der Salze auf die Wirksamkeit der Desinfizientien vom physikalisch-chemischen Gesichtspunkte aus aufzufassen?

Spiro hat diese Erscheinung mit der Aussalzbarekeit dieser Substanzen in Zusammenhang gebracht. Je mehr ein Salz aussalzend wirkt, um so stärker ist auch die von ihm hervorgerufene Erhöhung der desinfizierenden Wirkung.

Man hat beobachtet, daß in salzhaltigen Lösungsmitteln eine geringere Menge der Desinfizientien nötig ist, um eine gesättigte Lösung (die nichts mehr vom Desinfiziens löst) herzustellen, als in salzfreiem Lösungsmittel. Ich habe dann weiter festgestellt, daß in Gegenwart von Salzen von der oberflächenaktiven Substanz weniger vorhanden sein muß, um dieselbe Oberflächenspannungserniedrigung hervorrufen zu können. Also in beiden Fällen braucht man weniger Substanz, um die Eigenschaft der konzentrierteren, bzw. gesättigten Lösung zu erhalten.

Dies alles deutet auf eine Mitwirkung der Löslichkeit der oberflächenaktiven Substanz hin. Es schien daher geboten, die Beobachtungen auf gesättigte Lösungen der oberflächenaktiven Substanzen auszudehnen. Zu diesem Zwecke habe ich solche Substanzen gewählt, welche die Oberflächenspannung des Wassers stark vermindern. Das schien schon deswegen zweckmäßig, da bei diesen große Veränderungen der Oberflächenspannung auf Zusatz von Salzen beobachtet wurden.

Tabelle XVI.

Thymol gesätt. Lösung in	Tropf.- Zahl	Menthol gesätt. Lösung in	Tropf.- Zahl	Campher gesätt. Lösung in	Tropf.- Zahl
$\frac{n}{100}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	69,80	$\frac{n}{100}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	71,2	$\frac{n}{100}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	62,20
$\frac{n}{10}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	68,20	$\frac{n}{10}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	70,2	$\frac{n}{10}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	61,80
$\frac{n}{1}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	68,60	$\frac{n}{1}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	70,0	$\frac{n}{1}-(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	61,00
dest. Wasser	70,20	dest. Wasser	72,0	dest. Wasser	61,40

Thymol	Tropfenzahl der Lösung	Tropfenzahl der Lösung im Mittel
Dest. Wasser	70,2	43,8
$\frac{n}{100}\text{-KCl}$	68,4	43,8
$\frac{n}{10}\text{-KCl}$	68,6	43,8
$\frac{n}{1}\text{-KCl}$	68,8	46,0
$\frac{n}{1}\text{-Na}_2\text{SO}_4$	69,8	46,4
$\frac{n}{1}\text{-NaCl}$	70,4	44,8
$\frac{n}{1}\text{-Na-Acetat}$	69,4	45,6
$\frac{n}{1}\text{-KJ}$	70,4	49,8

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß in gesättigten salzhaltigen Lösungen die oberflächenaktiven Substanzen die Oberflächenspannung des Wassers nicht stärker herabsetzen, als die gesättigten wässerigen salzfreien Lösungen. Hier finden wir also nicht diese Erniedrigung der Oberflächenspannung auf Salzzusatz, die wir in verdünnten Lösungen der oberflächenaktiven Substanzen beobachtet haben.

Betrachten wir jetzt die folgenden Gesetzmäßigkeiten:

1. Man braucht weniger Substanz, um eine gesättigte Lösung der oberflächenaktiven Substanz herzustellen, wenn Salze in der Lösung vorhanden sind.

2. Die nichtkonzentrierten salzhaltigen Lösungen verhalten sich in bezug der Oberflächenspannung so wie konzentriertere nicht salzhaltige.

Jetzt kommt dazu:

3. daß die Oberflächenspannung der konzentrierten salzhaltigen Lösungen ebenso groß ist (in einigen Fällen etwas größer, aber nie kleiner) als die der gesättigten salzfreien Lösungen.

Die Gesamtheit dieser Beobachtungen kann am einfachsten mit der Hydrattheorie der Lösungen (die mit der Traubeschen Haftdrucktheorie in engstem Zusammenhange steht, wie wir das demnächst ausführen werden) erklärt werden. Wenn wir nämlich annehmen, daß die Salze gewisse Mengen von Wasser „binden“, die dann weiter nicht als Lösungsmittel für die übrigen Substanzen dient, können wir erstens sehr einfach erklären, daß in Gegenwart von Salzen die Lösungen sich wie konzentriertere salzfreie Lösungen verhalten. Zweitens, da ein Teil des Wassers nicht als Lösungsmittel für die oberflächenaktive Substanz dient, ist es verständlich, daß von letzterem in weniger Lösungsmittel sich weniger löst. Auch die in Punkt 3 angeführte Erfahrung beweist, daß der Salzzusatz die Menge des zur Lösung der oberflächenaktiven Substanz disponiblen Wassers vermindert. Nach der Gibbs-Thomsonschen Regel muß man nämlich annehmen, daß bei gleicher Oberflächenspannung auch die Konzentration der gelösten Substanz in der Oberfläche die gleiche ist. Da aber bei Gegenwart von Salz von der oberflächenaktiven Substanz nachweisbar absolut weniger gelöst wird, so kann die gleiche Konzentration nur so

erreicht werden, daß auch das Lösungsmittel — Wasser — weniger ist. Also führt diese Betrachtung wieder zu der Annahme, daß ein Teil des Lösungsmittels durch das Salz „gebunden“ wird.

Eine wichtige Stütze erhält diese Auffassung durch die Versuche mit gesättigten Salzlösungen. Ich habe das bei Eiweißfällungen wirksamste Salz $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gewählt.

Es stellte sich heraus, daß in gesättigten Lösungen von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ durch Thymol, Campher oder Menthol keine Herabsetzung der Oberflächenspannung erzeugt werden kann, wie das aus folgender Tabelle hervorgeht.

Tabelle XVII.

Gesättigte $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung	Tropfenzahl
Mit Campher gesättigt	46,6
Mit Menthol gesättigt	46,8
Mit Thymol gesättigt	46,8

Wir müssen also annehmen, daß in gesättigten $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösungen sich diese Substanzen nicht lösen.

Dieselbe Erscheinung kann man auch bei Natriumglykocholatlösungen beobachten. Bekanntlich wird Natriumglykocholat durch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gefällt. Zusatz von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (und auch anderer Salze) setzt die Oberflächenspannung der Glykocholatlösung herab; aber wenn man die Salzkonzentration steigert, erhöht sie sich, und in konzentrierter Lösung erreicht sie die Oberflächenspannung des Wassers (wie das die folgende Tabelle zeigt).

Tabelle XVIII.

Natriumglykocholat + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

	Tropfenzahl
10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natrium glykocholat . .	50,6
+ 5 ccm ca. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	70,8
+ 10 " " "	73,4
+ 15 " " "	75,0
+ 20 " " "	74,2
Mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gesättigte Lösung . .	46,6

Ich habe auch andere Salze in gesättigten Lösungen untersucht und ähnliche Wirkungen beobachtet. Es gab aber auch Ausnahmen, die ich demnächst näher besprechen werde. Ich möchte hier nur bemerken, daß ich in diesen Versuchen die Traubesche Haftdruckreihe gefunden habe.

Die Erklärung der Versuche mit gesättigten Salzlösungen ergibt sich sehr einfach aus dem vorher Gesagten. Die konzentrierten Salzlösungen binden alles Wasser und dadurch ist kein Lösungsmittel vorhanden, um die oberflächenaktive Substanz zu lösen. Also kann auch diese Erscheinung mit der Hydrattheorie sehr schön erklärt werden.

Zum Schlusse muß noch hervorgehoben werden, daß es mir gelungen ist, den Nachweis zu liefern, daß die besprochene Wirkung der Salze den Nichtelektrolyten nicht zukommt. Um dies zu prüfen, habe ich zu den Versuchen solche Nichtleiter gewählt, die selbst die Oberflächenspannung nicht oder nur in sehr geringem Grade beeinflussen, wie Dextrose, Maltose, Mannit, Harnstoff. In allen Fällen konnte es beobachtet werden, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, daß durch diese die Oberflächenspannung oberflächenaktiver Substanzen nicht erniedrigt wird.

Tabelle XIX.

Die Wirkung der Nichtelektrolyte.
Tropfenzahl des dest. Wassers 43,8.

Alkohol + Carbamid	Tropf.-Zahl	Phenol + Carbamid	Tropf.-Zahl	Natriumglykocholat + Carbamid	Tropf.-Zahl
10 ccm dest. Wasser + 1 ccm 96%igen Alkoh.	60,4	5 ccm 5%ige Phenollösung . . .	67,0	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykoch.	50,2
+ 1 ccm 5%iges Carbamid . .	59,0	+ 5 ccm 5%iges Carbamid	57,2	+ 5 ccm 5%iges Carbamid . .	49,6
+ 3 ccm 5%iges Carbamid . .	58,0	+ 10 ccm 5%iges Carbamid	53,2	+ 10 ccm 5%iges Carbamid . .	48,6
+ 6 ccm 5%iges Carbamid . .	56,2	+ 15 ccm 5%iges Carbamid	51,2	+ 50 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	57,2
				+ 100 " "	56,4
Natriumglykoch. + Dextrose	Tropf.-Zahl	Natriumglykoch. + Maltose	Tropf.-Zahl	Natriumglykoch. + Mannit	Tropf.-Zahl
10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykoch.	50,2	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykochollat . .	50,2	10 ccm $\frac{1}{2500}$ -Natriumglykoch.	50,2
+ 2 ccm 10%ige Dextrose . .	50,2	+ 2 ccm 10%ige Maltose	50,6	+ 2 ccm 10%iges Mannit	50,2
+ 5 ccm 10%ige Dextrose . .	50,4	+ 5 ccm 10%ige Maltose	50,6	+ 5 ccm 10%iges Mannit	50,2
+ 10 ccm 10%ige Dextrose . .	49,6	+ 10 ccm 10%ige Maltose	50,2	+ 10 ccm 10%iges Mannit	50,0
+ 25 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	57,4	+ 25 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl . .	58,2	+ 25 Tr. $\frac{1}{20}$ -HCl	58,2
+ 50 " "	57,8	+ 50 " "	59,2	+ 50 " "	58,2
+ 100 " "	58,0	+ 100 " "	59,0		

Aus diesen Versuchen darf aber nicht der Schluß gezogen werden, daß Nichtelektrolyte die Oberflächenspannung von oberflächenaktiven Substanzen überhaupt nicht erniedrigen können. Dagegen sprechen ja schon einige Versuche von Fühner. Allerdings scheint es, daß in diesen Fällen chemische Reaktionen mitbeteiligt sind. Sind letztere auszuschließen, so kann man behaupten, daß die Nichtelektrolyte im allgemeinen im selben Maße, wie sie die Löslichkeit nicht beeinflussen, sie auch die Oberflächenspannung nicht beeinflussen. Nach den oben ausgeführten Erörterungen steht aber die beobachtete Erscheinung in engstem Zusammenhange mit der Löslichkeit dieser Substanzen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Capillaraktive Substanzen, wie Äthylalkohol, Phenol, Thymol, Menthol, Campher, Hydrochinon, α -Naphthol, Natriumglykocholat, Glykocholsäure, Albumose, Casein erniedrigen in ungesättigten Lösungen bei Gegenwart gelöster Salze die Oberflächenspannung stärker als ohne Salze.
 2. Diese Erscheinung geht mit der Veränderung der physiologischen Wirksamkeit dieser Substanzen parallel.
 3. Dagegen ist die Oberflächenspannung von den mit diesen Stoffen gesättigten salzhaltigen Lösungen nicht kleiner als die der salzfreien Lösungen.
 4. Die Oberflächenspannung der gesättigten $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung wird von Thymol, Campher, Menthol, Glykocholsäure nicht erniedrigt.
 5. Die beobachteten Erscheinungen können am einfachsten mit der Hydratbildung der Salze erklärt werden.
-

**Stalagmometrische Studien an krystalloiden und
kolloiden Lösungen. VI**
**Über die Wirkung von Phenol auf die Oberflächenspannung
von Eiweißlösungen.**

Von
L. Berczeller.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: Franz Tangl.])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Die Untersuchungen von P. Ehrlich und Bechhold¹⁾ haben gezeigt, daß Phenol und seine Derivate in Gegenwart von Serum keine oder eine viel geringere baktericide Wirkung ausüben als in reinen wässrigen Lösungen. An anderer Stelle konnte ich nachweisen, daß die baktericide Wirkung der Phenollösungen mit ihrer die Oberflächenspannung erniedrigenden Wirkung sich parallel verändert. Ich wollte nun auch die Wirkung des Serums auf Phenol untersuchen und bin dabei auf einen sehr interessanten Widerspruch gestoßen.

Ich konnte für wässrige Phenollösungen nachweisen, daß mit der Verminderung der Oberflächenspannung eine stärkere Wirksamkeit, mit der Vergrößerung der Oberflächenspannung eine Verminderung der baktericiden Wirkung verbunden ist. Diese Erfahrung ist nur ein Spezialfall des von Traube in so vielen Fällen nachgewiesenen Gesetzes.

Wenn ich aber Phenollösungen mit Serum vermischte, dann habe ich nicht eine Vergrößerung der Oberflächenspannung, sondern im Gegenteil eine sehr starke Verminderung derselben beobachtet. In einem Falle konnte ich bei Zusatz von Phenol zu Wasser (mit dem Traubeschen Stalagmometer) eine Vergrößerung der Tropfenzahl von 43,8 Tropfen um 7,8 Tropfen beobachten, und wenn ich

¹⁾ P. Ehrlich und Bechhold, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 173.

zu ebensoviel Serum (dessen Tropfenzahl 47,6 war) ebensoviel Phenol zusetzte, erniedrigte sich die Zahl der Tropfen um 19,8. Der fast 250%ige Unterschied ist so groß, daß ich mich entschlossen habe, diese auffallende Erscheinung näher zu untersuchen.

Tabelle I.
Serum + Phenollösung.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl d. Lösung	Differenz d. Trop- fenzahlen	Serum	Tropfen- zahl d. Lösung	Differenz d. Trop- fenzahl
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm Serum I. .	47,6	—
+ 1 ccm 5%ige Phenollösung . . .	51,6	7,8	+ 1 ccm 5%ige Phenollösung . . .	67,4	19,8
+ 2 ccm 5%ige Phenollösung . . .	57,0	13,2	+ 2 ccm 5%ige Phenollösung . . .	73,6	26,0
+ 4 ccm 5%ige Phenollösung . . .	63,6	19,8			
+ 6 ccm 5%ige Phenollösung . . .	67,2	23,4			
Serum	Tropfen- zahl d. Lösung	Differenz d. Trop- fenzahl	Serum	Tropfen- zahl d. Lösung	Differenz d. Trop- fenzahl
5 ccm Serum II. .	47,8	—	5 ccm Serum III. .	48,4	—
+ 1 ccm 5%ige Phenollösung . . .	67,0	19,2	+ 1 ccm 5%ige Phenollösung . . .	66,2	17,8
+ 2 ccm 5%ige Phenollösung . . .	69,6	21,8	Dasselbe nach 4 Std. gemessen	67,4	19,0

Tabelle II.
Phys. Kochsalzlösung + Phenol.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl d. Lösung	Differenz d. Trop- fenzahl	Serum	Tropfen- zahl d. Lösung	Differenz d. Trop- fenzahl
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm phys. NaCl .	44,0	—
+ 1 ccm 5%ige Phenollösung . . .	51,6	7,8	+ 1 ccm 5%ige Phenollösung . . .	51,2	7,2
+ 2 ccm 5%ige Phenollösung . . .	57,0	13,2	+ 2 ccm 5%ige Phenollösung . . .	56,2	12,2
+ 4 ccm 5%ige Phenollösung . . .	63,6	19,8	+ 4 ccm 5%ige Phenollösung . . .	62,8	18,8

Zunächst konnte man daran denken, daß dies durch die Serumsalze hervorgerufen wird (siehe meine Mitteilung V in diesem Hefte). Das kann aber schon dadurch widerlegt werden, daß die Salze eine viel kleinere Wirkung ausüben, wie dies

zum Teil aus Tabelle II hervorgeht, in der die Wirkung einer physiologischen Kochsalzlösung veranschaulicht wird; ferner auch durch die Tatsache bestätigt wird, daß nach 24stündiger Dialyse des Serums die Wirkung noch etwas erhöht gefunden wurde.

Tabelle III.

Serum	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	Dialysiertes Serum	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	Aufgekochtes Serum	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen
5 ccm Serum . .	48,4	—	5 ccm dialys. Serum	49,0	—	5 ccm aufgek. Serum	60,4	—
+ 1 ccm 5% ige			+ 1 ccm 5% ige			+ 1 ccm 5% ige		
Phenollösung . .	66,2	17,8	Phenollösung . .	70,6	21,6	Phenollösung . .	72,4	11,8

Damit ist also bewiesen, daß diese Wirkung an die Kolloide des Serums gebunden ist. Dieselbe Erscheinung kann man auch bei einer Serumalbuminlösung (Merck) beobachten. Und zwar ist sie quantitativ in einer 1%igen Lösung fast so groß wie in einer 5%igen, wie das die folgenden Zahlen zeigen.

Tabelle IV.

Serumalbuminlösungen + Phenol.

Dest. Wasser	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	5%iges Serum- albumin	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	1%iges Serum- albumin	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm 5%iges Se- rumalbumin . .	46,8	—	5 ccm 1%iges Se- rumalbumin . .	44,2	—
+ 1 ccm ca. 4% ige			+ 1 ccm Phenol- lösung	55,8	9,0	+ 1 ccm Phenol- lösung	53,4	9,2
+ 2 ccm ca. 4% ige	49,6	5,8	+ 2 ccm Phenol- lösung	60,2	4,4	+ 2 ccm Phenol- lösung	57,4	4,0
Phenollösung . .	53,6	4,0	+ 3 ccm Phenol- lösung	62,6	2,4	+ 3 ccm Phenol- lösung	61,4	4,0
+ 3 ccm ca. 4% ige	56,4	2,8	+ 5 ccm Phenol- lösung	64,6	2,0	+ 3 ccm Phenol- lösung	63,8	2,4
Phenollösung . .	58,6	2,2						

Die Erscheinung ist nicht wesentlich abhängig von dem kolloidalen Zustand der Eiweißlösung, denn eine aufgekochte Serumlösung gibt auch eine Herabsetzung der Oberflächenspannung (s. Tab. III).

Nach diesen Versuchen wäre man geneigt, an eine chemische Wirkung zwischen Phenol und Eiweiß zu denken. Dafür spricht auch, daß andere Kolloide, z. B. Stärke, diese Erscheinung gar nicht zeigen.

Tabelle V.
Stärke + Phenol.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Stärke- Lösung	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm 1% ige lösl. St.	43,8	—
+ 1 ccm Phenollös.	50,8	7,0	+ 1 ccm Phenollös.	51,2	7,4
+ 2 " "	56,4	12,6	+ 2 " "	56,4	12,6
+ 3 " "	59,8	16,0	+ 3 " "	59,6	15,8
+ 4 " "	62,4	18,6	+ 4 " "	62,0	18,2
+ 6 " "	66,2	22,4	+ 6 " "	65,6	21,8
+ 8 " "	68,2	24,4	+ 8 " "	67,8	24,0

Diese Wirkung ist aber nicht nur für die Serumeiweißkörper oder für Serumalbumin charakteristisch. Ich habe sie mit Eiereiweiß, Pepton, Erepton (vollkommen abgebautes Eiweiß nach Abderhalden) ebenfalls erhalten.

Tabelle VI.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	1% iges Ovalbumin	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	10% iges Ovalbumin	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm 1% iges Ovalb.	43,8	—	5 ccm 10% iges Ovalb.	51,6	—
+ 1 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	49,6	5,8	+ 1 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	51,6	7,8	+ 1 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	60,4	8,6
+ 2 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	53,6	9,8	+ 2 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	55,2	11,4	+ 2 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	62,6	11,0
+ 3 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	56,4	12,6	+ 3 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	58,2	14,4	+ 3 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	64,8	13,2
+ 5 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	58,6	14,8	+ 5 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	60,6	16,8	+ 5 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	66,4	14,8

0,1% iges Witte-Pepton	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	1% iges Witte-Pepton	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	10% iges Erepton	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen
5 ccm 0,1% iges Witte-Pepton .	50,8	—	5 ccm 1% iges Witte-Pepton	55,4	—	5 ccm 10% iges Erepton	53,4	—
+ 1 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	58,8	8,0	+ 1 ccm Phenol- lösung	65,4	10,0	+ 1 ccm Phenol- lösung	60,4	7,0
+ 2 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	61,6	10,8	+ 2 ccm Phenol- lösung	69,8	14,4	+ 2 ccm Phenol- lösung	63,4	10,0
+ 3 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	63,0	12,2	+ 3 ccm Phenol- lösung	71,2	15,8	+ 3 ccm Phenol- lösung	65,4	12,0
+ 5 ccm ca. 4% ige Phenollösung . .	65,6	14,8	+ 5 ccm Phenol- lösung	72,6	17,2	+ 5 ccm Phenol- lösung	67,6	14,2

Wie ersichtlich, ist die Wirkung beim Ovalbumin kleiner als beim Serumalbumin; am stärksten ist sie beim Witte-Pepton

(Albumosenwirkung), am schwächsten beim Erepton. Glykokoll ist unwirksam.

Tabelle VII.
Glykokoll + Phenol.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	10%ige Glykokoll-Lösung	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm 10%ige Gly- kokoll-Lösung . .	49,4	—
+ 1 ccm Phenollös.	50,8	7,0	+ 1 ccm Phenollös.	52,4	3,0
+ 2 " "	56,4	12,6	+ 2 " "	57,6	8,2
+ 3 " "	59,8	16,0	+ 3 " "	61,6	12,2
+ 4 " "	62,4	18,6	+ 4 " "	64,0	14,6
+ 6 " "	66,2	22,4	+ 6 " "	66,8	17,4
+ 8 " "	68,2	24,4			

Die Wirkung ist nicht nur beim Phenol zu beobachten, wie das die Prüfung anderer oberflächenaktiver Nichteletrolyte ergeben hat. Parakresol wirkt z. B. wie Phenol, dagegen haben die Alkohole, Campher und Triacetin keine Wirkung.

Tabelle VIII.
A. Serum + Parakresol.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Serum	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm Serum . . .	49,4	—
+ 1 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	55,4	11,6	+ 1 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	68,6	19,2
+ 3 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	70,8	15,4	+ 3 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	76,6	8,0
+ 5 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	78,0	7,2	+ 5 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	78,2	1,6
+ 7 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	82,8	4,8	+ 7 ccm gesättigtes wäss. Parakresol	80,2	1,8

B. Serum + Triacetin.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Serum	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm Serum . . .	49,0	—
+ 1 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	57,0	13,2	+ 1 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	60,6	11,6
+ 3 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	62,6	5,6	+ 3 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	66,4	5,8
+ 5 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	67,0	4,4	+ 5 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	69,2	2,8
+ 7 ccm gesättigtes wäss. Triacetin . .	69,4	2,4			

C. Campher + Serum.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Serum	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm Serum	47,4	—
+ 1 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	44,8	1,0	+ 1 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	47,6	0,2
+ 3 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	45,6	0,8	+ 3 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	48,6	1,0
+ 5 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	46,2	0,6	+ 5 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	49,0	0,4
+ 7 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	46,6	0,4	+ 7 ccm gesätt. wäss. Campherlösung .	49,2	0,2

D. Thymol + Serum.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Serum	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm Serum	49,8	—
+ 1 ccm Thymol ¹⁾ .	65,0	21,2	+ 1 ccm Thymol . .	53,0	3,2
+ 3 " " . . .	72,2	7,2	+ 3 " " . . .	57,6	4,6
+ 5 " " . . .	72,6	0,4	+ 5 " " . . .	60,0	2,4

Auch vom Chloralhydrat wird angegeben, daß seine Wirkung durch Serum geschwächt wird. Trotzdem fand ich bei diesem wie beim Phenol bei Serumzusatz eine Herabsetzung der Oberflächenspannung.

Die Wirkung ist vielleicht noch stärker als beim Phenol, denn die Tropfenzahl nahm beim Serum um 9,6, beim destilliertem Wasser um 2,6 ab.

Tabelle IX.
Chloralhydrat + Serum.

Dest. Wasser	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	Serum I	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	Serum II	Tropfenzahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm Serum	51,8	—	5 ccm Serum	47,0	—
+ 1 ccm Chloral- hydratlösung . .	46,4	2,6	+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	58,6	6,8	+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	56,2	9,2
+ 3 ccm Chloral- hydratlösung . .	49,6	3,2	+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	60,2	1,6	+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	61,2	5,0
+ 5 ccm Chloral- hydratlösung . .	52,2	2,6	+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	60,4	0,2	+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	61,4	0,2
+ 7 ccm Chloral- hydratlösung . .	53,0	0,8	+ 7 ccm Chloralhy- dratlösung	60,2	0,2	+ 7 ccm Chloralhy- dratlösung	63,4	2,0

¹⁾ Gesättigte wässrige Lösung.

Tabelle IX (Fortsetzung).

5 fach verdünntes Serum	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Dasselbe, aufgekocht	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm verdünntes Serum	45,4	—	5 ccm aufgekochtes verdünnt. Serum	46,8	—
+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	51,0	5,6	+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	52,4	5,6
+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	55,4	4,4	+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	55,0	2,6
+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	56,4	1,0	+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	56,0	1,0
+ 7 ccm Chloralhy- dratlösung	57,0	0,6			

Auch dem Serumalbumin, Ovalbumin, Witte-Pepton und Erepton gegenüber verhält sich Chloralhydrat ebenso wie Phenol.

Tabelle X.

Dest. Wasser	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	Serumalbumin	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen	Ovalbumin	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Tropfen- zahlen
5 ccm dest. Wasser	43,8	—	5 ccm 5%iges Serumalbumin . .	45,8	—	5 ccm 10%iges Ovalbumin	49,2	—
+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	47,2	3,4	+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	51,8	6,0	+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	54,8	5,6
+ 2 ccm Chloralhy- dratlösung	50,3	3,1	+ 2 ccm Chloralhy- dratlösung	53,8	2,0	+ 2 ccm Chloralhy- dratlösung	56,8	2,0
+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	50,8	0,5	+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	55,2	1,4	+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	58,6	1,8
+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	52,4	1,6	+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	56,4	1,2	+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	61,2	2,6

Witte-Pepton	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen	Erepton	Tropfen- zahl der Lösung	Differenz der Trop- fenzahlen
5 ccm 1%iges Witte- Pepton	56,8	—	5 ccm 10%ige Ereptonlösung . .	53,2	—
+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	63,6	6,8	+ 1 ccm Chloralhy- dratlösung	57,6	4,4
+ 2 ccm Chloralhy- dratlösung	66,6	3,0	+ 2 ccm Chloralhy- dratlösung	58,6	1,0
+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	67,4	0,8	+ 3 ccm Chloralhy- dratlösung	59,2	0,6
+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	68,4	1,0	+ 5 ccm Chloralhy- dratlösung	59,8	0,6

Dieser vollkommene, in allen Punkten sich bestätigende Parallelismus — vor allem die Reihe Serumalbumin, Ovalbumin,

Witte-Pepton, Erepton — beweist, daß beim Phenol und Chloralhydrat die Erscheinungen durch die gleichen Bedingungen erzeugt werden.

Kann man nun auf Grund dieser Versuche erklären, warum die baktericide Wirkung des Phenols in Gegenwart von Serum geringer ist, trotzdem die Oberflächenspannung stärker erniedrigt wird als in destilliertem Wasser? Zunächst muß die Frage aufgeworfen werden, ob auch wirklich das Phenol in diesem Falle die Oberflächenspannung des Serums erniedrigt. Es ist durchaus möglich, daß im Serum eine Veränderung vorgeht, durch welche die Oberflächenspannung erniedrigt wird, ohne daß das Phenol in der Oberfläche konzentriert wird. Wir können freilich diese Oberflächenkonzentration direkt nicht messen, darauf können wir nur aus der Messung der Oberflächenspannung schließen, und wenn mehrere Substanzen in der Lösung vorhanden sind, so können wir nur dann einen Schluß auf die Oberflächenkonzentration ziehen, wenn es sich um reine Lösungen der betreffenden Substanz handelt. Sind mehrere Substanzen vorhanden und finden zwischen denselben chemische oder physikalische Vorgänge statt, so kann man allein aus der Oberflächenspannung keine eindeutigen Schlüsse auf die Oberflächenkonzentration ziehen. Daß zwischen Phenol und Eiweiß eine Wechselwirkung stattfindet, bei der die Eiweißlösung verändert wird, geht schon daraus hervor, daß Phenol die Eiweißlösungen irreversibel fällen. Wir kennen andererseits viele Fällungen, bei denen erst eine große Erniedrigung der Oberflächenspannung bei der Fällung stattfindet. Es soll hier z. B. die Hitzeokoagulation des Eiweißes erwähnt werden, für die meine Versuche¹⁾ bewiesen haben, daß sie mit einer Oberflächenspannungserniedrigung einsetzt. Dasselbe geschieht bei der Fällung der Alkaloide durch Laugen aus ihren Salzen (Traube, Berczeller und Csáki). Die Aussalzung von Phenol, Thymol, Campher usw. geht auch zunächst mit einer Erniedrigung der Oberflächenspannung einher²⁾.

¹⁾ Berczeller, diese Zeitschr. 53, 215.

²⁾ Traube konnte nachweisen, daß bei sehr vielen Stoffen, insbesondere bei Farbstoffen, die Fällung mit einer Vergrößerung der Oberflächenspannung parallel geht. Dieselbe Erscheinung konnte ich auch bei Caseinlösungen beobachten. Ich sehe darin keinen Widerspruch, daß

In allen Fällen folgt dann der Herabsetzung der Oberflächenspannung eine Erhöhung¹⁾.

Um die Veränderung der Eiweißlösung durch Phenol nachweisen zu können, mußte das Phenol nach der Einwirkung aus der Lösung entfernt werden. Zu diesem Zwecke habe ich Benzol verwendet, das die Oberflächenspannung des Wassers nur ganz minimal erniedrigt. Die mit Phenol versetzte Lösung durfte aber mit Benzol nicht stark geschüttelt werden, denn es bildete sich eine sehr feine Emulsion von Benzol und Eiweiß (ohne Phenol war die Schaumbildung gering). Deswegen habe ich meine Versuche in der Weise eingerichtet, daß ich die mit Phenol versetzte Serumalbuminlösung in feinem Strahl durch Benzol mehrmals durchtropfen ließ, dann wurde die Oberflächenspannung gemessen und das Durchtropfen so lange wiederholt, bis die Oberflächenspannung konstant wurde.

Tabelle XI.

5% Serumalbumin + Phenol	1. ²⁾	2.	3.	4.	5.
56,6	52,4	51,4	51,2	51,2	51,2
52,0	49,0	48,4	48,4	48,4	—

Wie aus Tabelle XI ersichtlich ist, hat die Lösung, aus der das Phenol mit Benzol extrahiert wurde, eine viel niedrigere Oberflächenspannung als dieselbe Lösung vor dem Zusatz des Phenols. (Benzol selbst verändert die Oberflächenspannung der

beim Phenol usw. entgegengesetzt eine Oberflächenspannungserniedrigung mit der Fällung in Zusammenhang gebracht wird. Ich möchte nur darauf hinweisen, daß in allen vorher erwähnten Fällen der vorangehenden Oberflächenspannungserniedrigung eine Erhöhung der Oberflächenspannung folgte. Es scheint also ein gewisser Zusammenhang zwischen den beiden Erscheinungen zu bestehen. Vielleicht hat die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung ein Maximum bei einer gewissen Teilchengröße. Wie das für die Lichtabsorption für kolloide Metalle durch Zsigmondy und besonders von The Svedberg nachgewiesen wurde. Dafür spricht auch, daß eine Vergrößerung der Oberflächenspannung allein, der nicht eine Erniedrigung voranging, nur bei Kolloiden beobachtet wurde.

¹⁾ Berczeller, diese Zeitschr. 58, 243.

²⁾ 1. usw. mal durch 10 ccm Benzol getropft.

Eiweißlösung nicht, wie ich mich durch Versuche überzeugete.) Das beweist also, daß nicht durch Phenol die Erniedrigung der Oberflächenspannung hervorgerufen wurde, sondern durch das Eiweiß. Allerdings ist es auch möglich, daß ein Teil des Phenols mit dem Eiweiß eine Verbindung eingegangen ist, und durch diese Verbindung die Oberflächenspannungserniedrigung hervorgerufen wird. Das ist aber für die Erklärung gleichgültig. Wichtig ist, daß nach diesen Versuchen Phenol sich in der Oberfläche in Gegenwart von Serum nicht stärker konzentriert, sondern daß die Oberflächenspannungserniedrigung auf andere Ursachen zurückzuführen ist.

Wir haben bisher mit der Oberflächentheorie nur erklärt, warum Phenol in Gegenwart von Serum (oder in Gegenwart von Eiweiß) nicht stärker wirkt; warum es aber schwächer wirkt, soll im folgenden zu erklären versucht werden.

Die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung des Phenols in Gegenwart von Serumalbumin kann man berechnen, wenn man aus der Oberflächenspannung der mit Phenol versetzten Serumalbuminlösung die Spannung der mit Benzol vom Phenol befreiten Lösung abzieht. Man bekommt so eine etwas kleinere Erniedrigung als die der wässrigen Phenollösung. Diese Differenz ist allerdings sehr klein, sie liegt aber in der Richtung, daß sie nach der Oberflächentheorie die kleinere Wirksamkeit der Phenollösungen in Gegenwart von Serum erklären kann. Das Phenol wird durch die Eiweißkörper aus der Oberfläche verdrängt. Ähnliche Erscheinung fand ich im Gemisch Natriumbenzoat + Phenollösungen. Die Oberflächenspannung der Phenollösungen wird ebenso stark von Natriumbenzoatlösungen erniedrigt als von anderen Salzen. Zusatz von Natriumbenzoat vermehrt aber die baktericide Wirksamkeit des Phenols viel weniger als die anderen Salze, was ich auch durch Verdrängung aus der Oberfläche erklärt habe.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind:

1. Es wird nachgewiesen, daß die Oberflächenspannung von Serum und Lösungen von verschiedenen Eiweißkörpern, Pepton und Erepton durch Zusatz von Phenol stärker erniedrigt wird als die des destillierten Wassers.

2. Dieselbe Erscheinung wird verursacht durch Parakresol und Chloralhydrat, aber nicht durch Äthylalkohol, Propylalkohol, Triacetin, Campher.

3. Diese Erniedrigung wird nicht durch die Oberflächenkonzentration des gelösten Phenols, sondern durch die des Eiweißes verursacht, also kann

4. die von Ehrlich und Bechhold beobachtete Erniedrigung der baktericiden Wirksamkeit des Phenols im Serum auch mit der Oberflächentheorie erklärt werden.

**Stalagmometrische Studien an krystalloiden und
kolloiden Lösungen. VII.
Pharmakologische Wirksamkeit und Oberflächenspannungs-
erniedrigung.**

Von
L. Berczeller.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: Franz Tangl.])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Es haben besonders die Untersuchungen Traubes¹⁾ und seiner Mitarbeiter gezeigt, daß in sehr vielen Fällen die oberflächenspannungseerniedrigende Wirkung der Arzneimittel und Gifte sich parallel mit ihrer Wirksamkeit im Tierkörper verändert. Das haben für die Narkotica Traube¹⁾, Fühner²⁾, Fühner und Neubauer³⁾, für die Alkaloide Traube⁴⁾, Tschernorutzky⁵⁾, Berczeller und Csáki⁶⁾ und Onodera⁷⁾ nachgewiesen.

Ich habe mir die Aufgabe gestellt, die Oberflächenspannungen auch von anderen Arzneimittellösungen zu messen, um diese mit ihrer pharmakologischen Wirksamkeit vergleichen zu können. Ich habe bereits darüber berichtet, daß es mir gelungen ist festzustellen, warum die desinfizierende Wirkung des Phenols in verschiedenen Lösungsmitteln verschieden ist. Es

¹⁾ Traube, Arch. f. d. ges. Physiol. **153**, 255.

²⁾ Fühner, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 1; **52**, 69.

³⁾ Fühner und Neubauer, Arch. f. experim. u. Pathol. u. Pharmakol. **56**, 333.

⁴⁾ Traube, diese Zeitschr. **42**, 470.

⁵⁾ Tschernorutzky, diese Zeitschr. **46**, 112.

⁶⁾ Berczeller und Csáki, diese Zeitschr. **53**, 238.

⁷⁾ Traube und Onodera, Zeitschr. f. int. phys.-chem. Biologie **1**.

soll nun zunächst untersucht werden, ob zwischen chemisch nahe verwandten Substanzen die verschiedene Stärke der pharmakologischen Wirksamkeit mit der verschiedenen Wirkung auf die Oberflächenspannung des Wassers zusammenhängt.

Experimentelles.

Phenol wirkt stärker antiseptisch als Resorcin, Brenzcatechin und Hydrochinon. Es erniedrigt auch die Oberflächenspannung des Wassers in gleichkonzentrierten Lösungen viel stärker. Diese wirken stärker als Phloroglucin, Vanillin, Pyrogallol, dementsprechend ist auch die oberflächenspannungs-erniedrigende Wirkung bei diesen letzteren Substanzen noch geringer.

Wenn wir nun die Wirksamkeit der Dihydroxybenzole untereinander vergleichen, so finden wir, daß das am meisten wirksame Brenzcatechin auch am stärksten die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt. Dasselbe gilt unter den Trihydroxybenzolen vom Pyrogallol, nur sind da die Differenzen in den Oberflächenspannungen etwas kleiner.

Auch die geringere baktericide Wirksamkeit der entsprechenden aromatischen Kohlenwasserstoffe kann damit in Zusammenhang gebracht werden¹⁾. Benzol wirkt viel schwächer baktericid als Phenol, Toluol schwächer als die Kresole, Naphthalin schwächer als die entsprechenden Naphthole. Diese Substanzen lösen sich allerdings nur ganz minimal in Wasser, aber die konzentrierten Lösungen erniedrigen auch nur ganz minimal die Oberflächenspannung des Wassers, dagegen sahen wir früher, daß die Phenole das in sehr hohem Maße tun. Auch die Erniedrigung der baktericiden Wirksamkeit durch Säuregruppen steht mit der Veränderung der Oberflächenspannung in ähnlichem Zusammenhange (Benzolsäure, Salicylsäure) besonders in Salzen.

α -Naphthol wirkt viel stärker als β -Naphthol. α -Naphthol ist auch für den Menschen giftig, β -Naphthol nicht; das erstere setzt auch die Oberflächenspannung stärker herab. (Ich habe die konzentrierten wässerigen Lösungen der beiden Substanzen verglichen.)

¹⁾ Gottlieb Meyer, Lehrbuch der Pharm. S. 464.

In dieser Gruppe übt Thymol die stärkste Wirkung aus. Es ist nur in ganz minimalen Mengen in Wasser löslich (1 : 1100), und diese minimalen Spuren üben eine stärkere antiseptische Wirkung aus als Phenol oder die Kresole. Dementsprechend erniedrigt es auch die Oberflächenspannung des Wassers in viel stärkerem Grade. Ebenso sind auch Campher und Menthol sehr stark wirksam, sie erniedrigen ebenfalls sehr stark die Oberflächenspannung des Wassers. (Es wurden hier auch die gesättigten wässerigen Lösungen verglichen.)

Tabelle I.
Tropfenzahl des dest. Wassers 43,8.

	Tropfenzahl
5%ige Hydrochinonlösung	47,0
5%ige Resorcinlösung	49,2
5%ige Brenzkatechinlösung	54,0
4%ige Phenollösung	57,0
1%ige Hydrochinonlösung	45,2
1%ige Resorcinlösung	46,4
1%ige Brenzkatechinlösung	47,8
1% Phloroglucin	44,4
1% Pyrogallol	45,0
Gesättigte wäss. α -Naphthollösung	56,4
" " β - " 	47,6
" " Thymollösung	70,1
" " Menthollösung	72,0
" " Campherlösung	61,4
" " Ortho-Kresollösung	67,4
Meta- " 	92,0
Para- " 	107,0

Ich muß bemerken, daß ich auch Ausnahmen beobachten konnte. Es steht mit der Theorie im Einklange, daß Brenzkatechin stärker wirkt als Hydrochinon und Resorcin. Aber von beiden letzteren soll Hydrochinon das giftigere sein, obwohl, wie das Tabelle I zeigt, Resorcin die Oberflächenspannung stärker herabsetzt.

Parakresol wirkt stärker als Ortho- und Metakresol, es setzt auch die Oberflächenspannung stärker herab, aber Orthokresol wirkt wieder stärker antiseptisch als die Metaverbindung, obwohl sie die Oberflächenspannung weniger herabsetzt.

Es wurden auch die gesättigten wässerigen Lösungen verglichen. Keinesfalls hängt das etwa mit der Löslichkeit zusammen, denn nach Overton ¹⁾ lösen 100 Teile Wasser 2,5 Teile

¹⁾ Studien über Narkose, S. 130.

Orthokresol, 0,5 Teile Metakresol und 1,8 Teile Parakresol, also ist Orthokresol löslicher als Metakresol.

Mit der Theorie stimmt es auch, daß die Kresole die Oberflächenspannung des Wassers stärker erniedrigen als Phenol. Sie wirken auch stärker desinfizierend.

Paranitrophenol wirkt stärker im Organismus als Ortho-nitrophenol. Die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung entspricht dem vollkommen: Die Oberflächenspannung der gesättigten wässerigen Lösung von Paranitrophenol ist 50,0, die der Orthoverbindung 47,4.

Ebenso ist Paranitrotoluol giftiger als die Meta-Verbindung, und die Ortho-Verbindung ist noch weniger giftig, dem entspricht auch die Oberflächenspannung der wässerigen Lösungen, denn Paranitrotoluol erniedrigt am meisten und Orthonitrotoluol am wenigsten.

Tropfenzahl der Lösung

Orthonitrotoluol . . .	45,8
Metanitrotoluol . . .	46,6
Paranitrotoluol . . .	49,6

Dasselbe Verhalten zeigen die Toluidine:

Meta-Verbindung . .	81,2
Ortho-Verbindung . .	70,2

Nach S. Fränkel¹⁾ sind unter den aromatischen Körpern meist die Paraverbindungen giftiger, aber es gibt einige Ausnahmen, wo die Orthoverbindung die giftigere ist, so z. B. der Orthonitrobenzaldehyd, es setzt aber auch die Oberflächenspannung des Wassers stärker herab:

Tropfenzahl

Paranitrobenzaldehyd . .	44,8
Orthonitrobenzaldehyd . .	47,0

Ähnliche Erscheinungen können wir auch bei letzteren finden, die im Tierkörper ganz anders wirken als die bisher erwähnten. Wie ich schon bemerkt habe, konnten besonders von Traube viele ähnliche Beobachtungen bei den Narkoticis gemacht werden. Es sollen nur seine Angaben noch mit folgenden ergänzt werden.

¹⁾ S. Fränkel, Arzneimittelsynthese, S. 122.

Chloralose wirkt narkotisch. Der sogenannten Parachloralose fehlt diese Wirkung vollständig; Chloralose erniedrigt die Oberflächenspannung des Wassers ziemlich stark, Parachloralose nicht. Ich konnte in gesättigter wässriger Lösung sogar eine minimale Erhöhung der Oberflächenspannung des Wassers beobachten.

Ebenso konnte der Unterschied in der Wirkung von Phenantren und Anthracen auf einen Unterschied der Wirkung beider Substanzen auf die Oberflächenspannung des Wassers zurückgeführt werden. Diesen Fall erwähne ich deswegen, weil die beiden Substanzen nur in minimalsten Spuren im Wasser löslich sind und Phenantren dennoch noch narkotisch wirkt. Nach Overton löst sich Phenantren in ca. 300 000 Teilen Wasser, Anthracen erst in über 1 000 000 Teilen. Phenantren wirkt narkotisch, Anthracen nicht. Es konnte nachgewiesen werden, daß die gesättigte wässrige Lösung des Phenantrens eine Oberflächenspannungserniedrigung des Wassers verursacht, Anthracen nicht. Die Veränderung der Oberflächenspannung des Wassers durch Phenantren ist allerdings sehr klein, aber doch ganz bestimmt nachweisbar.

	Tropfenzahl der Lösung
Gesättigte wässrige Lösung von Phenantren . .	44,80
" " " " Anthracen . . .	43,80

Diese Versuche bestätigen also nochmals, daß zwischen physiologischer Wirksamkeit und oberflächenspannungserniedrigender Wirkung der Substanzen ein Zusammenhang besteht.

**Stalagmometrische Studien an krystalloiden und
kolloiden Lösungen. VIII.**
**Über einige Komplexe von Eiweiß und Stärke mit anderen
Kolloiden.**

Von
L. Berczeller.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
(Eingegangen am 13. Mai 1914.))

Die eingehenden Untersuchungen über den Mechanismus der Hämolyse führten L. v. Liebermann¹⁾ zur Erkenntnis der Verbindung zwischen Eiweiß und Seifen.

Michaelis und Rona²⁾ haben dann weiter die Beobachtung von Traube³⁾ bestätigt, daß im Gegenwert von Serum die Seifen die Oberflächenspannung des Wassers viel weniger herabsetzen, als wenn Eiweißkörper nicht vorhanden sind. Sie schließen daraus, daß die Eiweißkörper mit den Seifen Verbindungen eingehen. Aus ihren Versuchen geht das mit großer Wahrscheinlichkeit, aber nicht ganz sicher hervor, sind doch im Serum noch andere Substanzen, welche die Oberflächenaktivität der Seifen verändern könnten. Ich will hier nur die Ca⁺⁺- und Mg⁺⁺-Salze erwähnen, welche sehr stark die Oberflächenspannung der Seifenlösungen vergrößern.

Ich habe eine eingehendere Untersuchung der Frage in Angriff genommen, um zunächst sicher zu entscheiden, ob tatsächlich die Eiweißkörper die Oberflächenspannung der Seife beeinflussen, und wenn ja, wie der Mechanismus dieser Wirkung ist. Außerdem habe ich aber noch die Wechselwirkung von Kolloiden auf die Oberflächenspannung ihrer gemeinsamen Lö-

¹⁾ v. Liebermann, diese Zeitschr. 4, 29.

²⁾ Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 41, 165.

³⁾ Traube, diese Zeitschr. 10, 379.

sungen geprüft, was deswegen wünschenswert erscheint, da die gegenseitige Beeinflussung der Kolloide aus ihrem Verhalten in ihren reinen Lösungen gar nicht vorauszusagen ist.

Bezüglich der Methodik bemerke ich nur soviel, daß ich die Oberflächenspannungen stets mit dem Traubescben Stalagmometer bei Zimmertemperatur gemessen habe. Die Tropfenzahl des Wassers betrug in dem gebrauchten Stalagmometer $43,8^{\circ}\text{C}$.

1. Serumalbumin + Seife.

Wenn ich Serumalbuminlösungen mit Seifen versetzt habe, verminderte sich die Oberflächenspannung viel weniger, als wenn ich ebensoviel Seife in Wasser aufgelöst habe.

Tabelle I.
Serumalbumin + Seife.

50 ccm ca. 2 $\frac{0}{100}$ iges Serumalbumin	46,6	50 ccm dest. Wasser	43,8
+ 25 Tropf. $\frac{1}{1500}$ Na-Oleatlösung.	46,6	+ 25 Tropfen Na-Oleatlösung	47,4
+ 50 " " " "	46,6	+ 50 " " " "	49,4
+ 100 " " " "	46,8	+ 100 " " " "	51,0
+ 150 " " " "	49,2	+ 150 " " " "	57,6

Ich habe meine Versuche mit Natriumoleat angestellt, denn bekanntlich lösen sich die Seifen der Stearinsäure und Palmitinsäure in Wasser nicht, sie sind reine Suspensionskolloide; sie beeinflussen auch nicht die Oberflächenspannung des Wassers, wie das Bottazzi¹⁾ nachgewiesen hat. Allerdings wird durch Zugabe von Lauge die Oberflächenspannung vermindert.

Als Beispiel diene mein folgender Versuch:

50 ccm dest. Wasser hat die Tropfenzahl 43,8,
+ 100 Tropfen 0,2 $\frac{0}{100}$ Na-Oleat hat die Tropfenzahl. 46,0,
+ 25 Tropfen $\frac{2}{10}$ -KOH hat die Tropfenzahl 54,4.

Mit laugehaltigen Lösungen wollte ich aber meine Versuche nicht anstellen, denn bekanntlich bindet das Eiweiß viel Lauge (v. Liebermann und Bugarszky), und so konnte wohl eine Bindung der Lauge eine Bindung der Seifen vortäuschen.

Ein indirekter Beweis für das Vorstehende ist folgende Tatsache:

Wenn man Natriumoleat mit wenig Lauge versetzt, wird die Oberflächenspannung der Lösung stark vermindert (Bot-

¹⁾ Bottazzi, Rend. R. Accad. d. Lincei 1912, 365.

tazzi¹⁾, wenn man aber eine eiweißhaltige Seifenlösung mit Lauge versetzt, dann wird die Oberflächenspannung nicht beeinflusst, wie das die folgenden Versuche zeigen.

Tabelle II.

Dest. Wasser	Tropf.-Zahl	2 %iges Serumalbumin	Tropf.-Zahl
5 ccm dest. Wasser	43,8	5 ccm 2%iges Serumalbumin	45,0
+ 100 Tropf. Na-Oleatlösung	56,6	+ 100 Tropf. Na-Oleatlösung	45,0
+ 5 Tropf. $\frac{1}{10}$ -KOH	64,0	+ 15 Tropf. $\frac{1}{10}$ -KOH	45,2

Wie ich schon vorher erwähnt habe, wird die Oberflächenspannung von Seifenlösungen durch Ca^{++} - und Mg^{++} -Salze sehr stark vergrößert. Wie groß diese Wirkung ist, das können wir aus folgender Tabelle ersehen.

Tabelle III.

K-Oleatlösung + Ca^{++} - und Mg^{++} -Salze.

$\frac{1}{100}$ - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	Tr.-Z.	Diff. der Tropf.-Zahl	$\frac{1}{100}$ - $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	Tr.-Z.	Diff. der Tropf.-Zahl	Gesättigte wäss. CaCO_3 -Lösung	Tr.-Z.	Diff. der Tropf.-Zahl
5 ccm 0,02% K-Oleat	44,8	—	5 ccm 0,02% K-Oleat	44,8	—	5 ccm 0,02% K-Oleat	45,2	—
+ 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ -KOH	62,2	+ 17,4	+ 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ -KOH	62,4	+ 17,6	+ 0,1 ccm $\frac{1}{2}$ -KOH	62,0	+ 16,8
+ 0,1 ccm $\frac{1}{100}$ - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	52,4	— 9,8	+ 0,1 ccm $\frac{1}{100}$ - MgNO_3	51,8	— 10,6	+ 0,1 ccm CaCO_3 gesättigt	59,4	— 2,6
+ 0,3 ccm $\frac{1}{100}$ - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	46,8	— 5,6	+ 0,3 ccm $\frac{1}{100}$ - MgNO_3	47,4	— 4,4	+ 0,3 ccm CaCO_3 gesättigt	53,6	— 5,8
+ 0,6 ccm $\frac{1}{100}$ - $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	45,8	— 1,0	+ 0,6 ccm $\frac{1}{100}$ - MgNO_3	45,8	— 1,6	+ 0,6 ccm CaCO_3 gesättigt	48,4	— 5,2

Da auch schon eine gesättigte wässrige CaCO_3 -Lösung eine sehr starke Wirkung auf die Oberflächenspannung der Seifenlösungen ausübt, ist es vollkommen berechtigt anzunehmen, daß die Wirkung des Serums auf die Seifenlösungen sich aus der Wirkung der Ca^{++} -Salze und aus denen der Eiweißkörper zusammensetzt.

In dem angeführten Versuch konnte gezeigt werden, daß die Asche des Serumalbumins im Vergleich zum Serumalbumin nur eine ganz kleine Wirkung auf die Oberflächenspannung der Seifenlösung ausübt.

¹⁾ Bottazzi, l. c.

2. Stärkelösung + Seife.

Um die Wirkung des Eiweißes näher untersuchen zu können, habe ich zum Vergleich eine andere kolloide Lösung, Stärkelösung, untersucht. Man kann dieselbe Erscheinung beobachten wie bei dem Eiweiß: Die Oberflächenspannung von Stärkelösungen wird durch Seifen viel weniger erniedrigt als die des Wassers.

In der folgenden Tabelle sind einige diesbezügliche Daten angegeben.

Tabelle IV.
Stärke + Seife.

50 ccm dest. Wasser .	43,8	50 ccm 1 ^o / ₁₀ iges Amylum sol. ¹⁾	44,2	50 ccm 1 ^o / ₁₀ iges Amylum trit.	43,6
+ 50 Tr. ¹ / ₆₀₀ -Na-Oleat	46,6	+ 50 Tr. Na-Oleat . . .	44,2	+ 50 Tr. Na-Oleat . . .	44,0
+ 100 " " . . .	46,8	+ 100 " " . . .	45,6	+ 100 " " . . .	44,6
+ 150 " " . . .	49,2	+ 150 " " . . .	46,8	+ 150 " " . . .	45,0
+ 200 " " . . .	58,6	+ 200 " " . . .	51,8	+ 200 " " . . .	46,6

Einen wesentlichen Unterschied können wir jedoch zwischen dem Verhalten von Eiweiß und von Stärke bemerken. Denn wie ich schon bemerkt habe, verändert Laugenzusatz die Oberflächenspannung der Eiweiß-Seiflösungen nicht, die der Stärke-Seiflösungen vermindert er dagegen sehr stark, obwohl die Stärke auch viel Lauge bindet.

In der folgenden Tabelle sind einige diesbezügliche Daten angegeben.

Tabelle V.
Veränderungen der Oberflächenspannung von Stärke-Seifemischungen auf Zusatz von Lauge.

1 ^o / ₁₀ iges Amylum tritici	43,6	} sogleich gemessen
+ 200 Tr. ¹ / ₆₀₀ -Na-Oleat	46,6	
+ 200 " " + 5 Tr. ² / ₁₀ -KOH	51,6	
+ 200 " " + 10 " ² / ₁₀ -H ₂ SO ₄	47,4	
Dieselbe Lösung	46,6	} nach einer Stunde
+ 6 Tr. ² / ₁₀ -KOH	55,0	

In weiteren Versuchen suchte ich festzustellen, wie weit diese Wirkung der Stärkelösungen von dem physikalischen Zustand der Stärkelösungen abhängt. Man kann nämlich einfach durch Stehenlassen der Lösung bewirken, daß die Teilchengröße in den Stärkelösungen zunimmt, und umgekehrt kann man

¹⁾ Kahlbaums Präparat.

durch längeres Kochen bewirken, daß die Teilchengröße abnimmt. Ich konnte beobachten, daß dementsprechend die Stärkelösungen eine verschiedene Wirkung auf die Seifenlösungen ausübten. Länger gekochte vergrößerten nämlich die Oberflächenspannung viel weniger, als solche Stärkelösungen, die nicht so lange gekocht waren. Wie verschieden sich die Stärkelösungen dabei verhalten, das zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle VI.

	Tropfenzahl	
	sogleich nach dem Bereiten benutzt	zuerst 3 Std. lang gekocht
50 ccm 1 ⁰ / ₁₀ ige Reisstärke . . .	43,4	43,4
+ 15 Tr. Na-Oleatlösung . . .	43,4	44,0
+ 60 " " . . .	46,4	47,6
+ 100 " " . . .	50,4	54,0

In dieser Hinsicht ist es auch interessant, das Verhalten der löslichen Stärke zu untersuchen. Die lösliche Stärke enthält viel kleinere Teilchen als die nichtlösliche, und dementsprechend vergrößert auch die lösliche Stärke viel weniger die Oberflächenspannung der Seifenlösung (s. Tabelle IV).

Diese Versuche beweisen, daß die Erscheinung im engsten Zusammenhange mit dem kolloiden Zustand der Stärke steht, eine andere Veränderung ist ja in der Stärkelösung nicht eingetreten. Aus den Eiweißversuchen konnte man nämlich nur soviel sagen, daß irgendwie die „Konzentration“ der Seife vermindert wird; diese Stärkeversuche zeigen aber deutlich, daß kolloide Komplexe entstehen.

3. Zeitlicher Ablauf der Eiweiß-Seife bzw. Stärke-Seifenreaktion.

Die nächsten Versuche sollten entscheiden, ob die Reaktion zwischen Seife und Eiweiß bzw. Stärke momentan abläuft oder nicht. Das konnte sehr einfach durch in gewissen Zeiträumen wiederholtes Messen der Oberflächenspannung der Gemische geschehen. Wenn nämlich die Reaktion momentan abläuft, so bleibt die Oberflächenspannung der Lösung konstant, wenn aber von dem Eiweiß und der Stärke immer mehr Seife gebunden wird, dann wird die Oberflächenspannung der Lösung mit der Zeit wachsen, da die die Oberflächenspannung vermindernde Seife aus der Lösung verschwindet.

Zuerst mußte aber untersucht werden, ob sich die Oberflächenspannung der Seifenlösungen mit der Zeit nicht verändert. Wie aus den angegebenen Zahlen ersichtlich ist, verändert sich während 4 Tagen die Oberflächenspannung der Natriumoleatlösung nicht. Zum Beispiel:

	Tropfenzahl der Lösung			
	ungefähr 0,5 %	sofort	nach 24 St.	nach 48 St. nach 96 St.
Natriumoleatlösung	56,4	56,4	56,6	56,7

Anmerkung: Die beobachtete minimale Herabsetzung der Oberflächenspannung kommt bei meinen Versuchen nicht in Betracht; sie wurde vielleicht von der aus dem Glas aufgelösten Lauge verursacht, denn wie wir gesehen haben, wird schon durch wenig Lauge die Oberflächenspannung der Seifenlösungen erniedrigt.

Die Oberflächenspannung von Eiweiß-Seife und Stärke-Seifegemischen bleibt nicht konstant, sondern wächst mit der Zeit.

Tabelle VII.

Die zeitliche Veränderung der Oberflächenspannung von Eiweiß-Seifegemischen.

	Tr.-Z.
1 % Ovalbumin (Merck)	43,8
+ 15 Tr. $\frac{1}{100}$ -Na-Oleat .	46,6
nach 12 Stunden . . .	44,2
nach 24 Stunden . . .	43,8
nach 48 Stunden . . .	43,8

Tabelle VIII.

	Tr.-Z.
1 % Ovalbumin (Merck)	43,8
+ 60 Tr. $\frac{1}{300}$ -Na-Oleat .	52,6
nach 12 Stunden . . .	48,4
nach 24 Stunden . . .	46,0
nach 48 Stunden . . .	46,2

Tabelle IX.

50 ccm 1 %iges Amylum tritici + 200 Tropfen $\frac{1}{500}$ -Natriumoleatlösung (nacheinander folgende Messungen):

49,6 48,2 48 47,2 46,6

Nach 1 Stunde: 46,6.

1 %iges Amylum tritici + 150 Tropfen $\frac{1}{500}$ -Natriumoleatlösung:

47,6 46,4 45,0 45,1

Die Erklärung dieser Erscheinung ist bei der Eiweißlösung ziemlich einfach. Die Bildung der kolloiden Komplexe geschieht nicht momentan, sondern mit der Zeit (Zeitreaktion). Bei der Stärke kann aber auch noch das „Altern“ der Stärkelösungen dazu beitragen. Wenn nämlich die Stärkelösungen bei Zimmertemperatur stehen, so ändern sie sich in der Richtung, daß wir annehmen müssen, daß in ihnen die Teilchen größer werden. Wie wir gesehen haben, vergrößern solche Lösungen die Oberflächenspannung der Seifenlösungen in größerem Maße als solche Lösungen, die kleinere Teilchen enthalten (siehe Tabellen IV und VI). Da schon die zeitliche Veränderung der Stärkelösung selbst eine zeitliche Vergrößerung der Oberflächenspannung hervorruft, konnte ich nicht entscheiden, ob bei der Stärke die Reaktion momentan oder mit der Zeit abläuft.

4. Stärke + Albumosen bzw. Eiweiß + Albumosen.

Die Oberflächenspannungen der Stärke- und Albumosenlösungen addieren sich fast ganz genau.

Tabelle X.
Stärke + Albumosen.

	Tropf.- Zahl der Lö- sung		Tropf.- Zahl der Lö- sung		Tropf.- Zahl der Lö- sung
50 ccm dest. Wasser .	43,8	50 ccm 2%iges Amylum solubile	44,0	50 ccm 0,5%iges Amy- lum orycae	43,2
+ 1 ccm Pepton (Witte)	44,6	+ 1 ccm Pepton (Witte)	44,2	+ 1 ccm Pepton (Witte)	44,4
+ 3 ccm " "	47,0	+ 3 ccm " "	46,4	+ 3 ccm " "	46,6
+ 5 ccm " "	48,2	+ 5 ccm " "	47,6	+ 5 ccm " "	47,6
+ 7 ccm " "	49,4	+ 7 ccm " "	48,8	—	—
+ 10 ccm " "	49,8	+ 10 ccm " "	49,6	+ 10 ccm " "	49,2

Eiweiß- und Albumosenlösungen verhalten sich anders.

Tabelle XI.
Serumalbumin + Serumalbuminsäure-Albumose.

	Tr.-Z.		Tr.-Z.
5 ccm dest. Wasser + 0 ccm A-Lösung	43,8	5 ccm 5%ige Serumalbumin- Lösung + 0 ccm A-Lösung	50,2
+ 1 ccm A-Lösung	46,4	+ 1 ccm A-Lösung	51,2
+ 2 ccm A-Lösung	48,8	+ 2 ccm A-Lösung	51,6

Bemerkung: 5 ccm Serumalbumin wurden mit 5 ccm $\frac{1}{10}$ -HCl 5 Minuten lang gekocht (Lösung A). Die Oberflächenspannung wurde dabei von 50,4 Tropfen auf 52,6 Tropfen vermindert.

Tabelle XII.
Serumalbumin + Witte-Pepton.

	Tr.-Z.		Tr.-Z.
5 ccm Serumalbumin Merck 5 % und 0 ccm 1 % W.-P.	50,4	5 ccm dest. Wasser + 0 ccm 1 % W.-P.	43,8
+ 1 ccm	52,8	+ 1 ccm W.-P.	52,4
+ 2 ccm	53,8	+ 2 ccm W.-P.	53,8
+ 4 ccm	54,4	+ 4 ccm W.-P.	55,2

Tabelle XIII.
Serumalbumin + Witte-Pepton.

	Tr.-Z.		Tr.-Z.
50 ccm 5 % Serumalbumin .	51,6	50 ccm dest. Wasser . . .	43,8
+ 10 ccm 2 % W.-P. . . .	53,6	+ 10 ccm W.-P.	53,2
+ 20 ccm 2 % W.-P. . . .	54,0	+ 20 ccm W.-P.	54,6
+ 30 ccm 2 % W.-P. . . .	54,4	+ 30 ccm W.-P.	54,8
+ 40 ccm 2 % W.-P. . . .	54,8	+ 40 ccm W.-P.	55,2

Durch Albumosen wird die Oberflächenspannung der Eiweißlösungen weniger erniedrigt als die des Wassers. Hier ist allerdings die Wirkung nicht so groß wie bei den Seifen, wo sogar die resultierende Oberflächenspannung viel größer war als die der einzelnen Komponenten. Deswegen kann man auch die Frage nicht ohne weiteres entscheiden, ob hier zwischen Eiweiß und Albumosen ein kolloidaler Komplex zustande kommt, oder ob hier die eine Substanz die andere aus der Oberfläche verdrängt. Doch sprechen die mit größeren Mengen Albumosen angestellten Versuche für die Bildung von kolloiden Komplexen, denn die Oberflächenspannung der reinen, ohne destilliertes Wasser bereiteten Albumoselösung ist kleiner als die mit Eiweißlösung bereitete. Würde es sich nur um eine Verdrängung aus der Oberfläche handeln, so müßte die Oberflächenspannung der beiden Lösungen gleich sein. Auch die Versuche mit Witte-Pepton sprechen für die Komplexbildung¹⁾.

Witte-Pepton ist bekanntlich keine einheitliche Substanz, und besteht größtenteils aus Albumosen. Ich habe das pulverförmige Witte-Pepton mehrmals nacheinander mit destilliertem Wasser extrahiert, und habe gefunden, daß die aufeinander folgenden Extrakte immer weniger die Oberflächenspannung des Wassers

¹⁾ Siehe auch Rohonyi, diese Zeitschr. 52, 179, und Berczeller, diese Zeitschr. 53, 215.

erniedrigt haben. Wenn ich die erhaltenen Fraktionen mit 50% Alkohol gefällt, die Lösung abfiltriert, am Wasserbade eingetrocknet und nachher in demselben Volumen destilliertes Wasser aufgelöst habe, hatten die so erhaltenen Lösungen eine kleinere Oberflächenspannung, als vor der Alkoholbehandlung. Ich habe einen großen Teil der Albumose aus der Lösung ausgeschieden, und die resultierende Lösung hatte doch eine kleinere Oberflächenspannung.

Meine diesbezüglichen Daten sind in der folgenden Tabelle XIV zusammengefaßt.

Tabelle XIV.

Tropfenzahl: 1%ige Albumoselösung 57,4; 1%ige Lösung einer mit Alkohol gewaschenen Albumose 57,0.

	Tropfenzahl der Lösung	
	A	B
1	61,4	64,2
2	63,8	65,8
3	61,6	64,8
4	61,4	63,8
5	60,0	62,8
6	57,8	61,6
7	57,4	61,8

Lösung A. Witte-Pepton wurde mit immer erneuten Fraktionen von destilliertem Wasser geschüttelt.

Lösung B. Lösung A wurde mit dem gleichen Volumen 96% Alkohol gefällt, die Lösung am Wasserbade eingedampft und auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt.

Aus dieser Tatsache geht hervor, daß die in 50% Alkohol lösliche Fraktion (des Witte-Peptons) durch die in 50%-iger nicht lösliche daran gehindert wird, daß sie ihre ganze herabsetzende Wirkung auf die Oberflächenspannung ausübt.

Diese Erscheinung ist der zwischen Seife und Eiweiß vollkommen analog, und die gleichen Gründe sprechen bei beiden für die Annahme kolloider Komplexe.

Anmerkung: Daß die Oberflächenspannung eines Gemisches verschiedener Albumosen, ferner eines Gemisches von Eiweiß und Albumosen sich nicht einfach addieren, ist auch bei der Eiweißhydrolyse wichtig. Denn es können Albumosen vorhanden sein (besonders in Eiweißlösungen), die die Oberflächenspannung der Lösung viel weniger erniedrigen, als wenn sie allein gelöst wären.

5. Eiweiß bzw. Stärke + Gallensaure Salze.

Zum Schlusse sei noch eine Versuchsreihe mit anderen seifenähnlichen Stoffen — den gallensauren Salzen — angeführt.

Bezüglich der herabsetzenden Wirkung auf die Oberflächenspannung verhalten sich diese Substanzen insofern verschieden von den Seifen, als die fettsauren Salze stärker wirken wie die Fettsäuren, denn die Seifen wirken bei den Gallensäuren viel stärker als ihre Salze.

Die Oberflächenspannung von Eiweiß-Gallensäuresalzlösungen hat schon Quagliariello¹⁾ gemessen, und er hat gefunden, daß ihre die Oberflächenspannung erniedrigende Wirkung durch Eiweiß verändert wird. Ich kann seine Angaben bestätigen. Ich konnte weiter zeigen, daß sich die Gallensäuresalze in dieser Beziehung ebenso verhalten wie die Seifen.

In der folgenden Tabelle ist die Oberflächenspannung von reinem Natriumglykocolat und von einer einweißhaltigen Lösung angegeben.

Tabelle XV.
Eiweiß + Natriumglykocolat.

50 ccm dest. Wasser . . .	43,8	50 ccm 2%iges Serumalbum.	45,8
+ 20 ccm Na-Glykocolat .	47,0	+ 20 ccm Na-Glykocolat .	46,7
+ 30 " " "	47,8	+ 30 " " "	47,3
+ 40 " " "	48,4	+ 40 " " "	47,8

Die Stärke zeigt ein abweichendes Verhalten, durch sie wird das Gallensäuresalz nicht gebunden, die Oberflächenspannung dementsprechend nicht erhöht.

Tabelle XVI.
Stärke + Natriumglykocolat.

50 ccm dest. Wasser . . .	43,8	1% Amyl. orycae	43,8
+ 10 ccm ¹ / ₈₅₀₀ Na-Glykool.	45,6	+ 10 ccm Na-Glykocolat .	45,4
+ 30 " " "	47,8	+ 30 " " "	47,5
+ 40 " " "	48,4	+ 40 " " "	48,2

Allerdings ist die beobachtete Veränderung der Oberflächenspannung auch bei den Eiweißlösungen ziemlich klein. Wir können aber doch auf die Bindung durch Eiweiß und Nicht-Bindung durch Stärke schließen, weil alle Versuchsergebnisse einerseits bei der Stärke, andererseits bei dem Albumin eindeutig sind.

¹⁾ Quagliariello, diese Zeitschr. 25, 220.

Die wichtigeren Ergebnisse dieser Arbeit sind die folgenden:

1. Es wird bestätigt, daß die Seifen in Gegenwart von Eiweiß die Oberflächenspannung des Wassers weniger vermindern als in reinem dest. Wasser; diese Wirkung der Eiweißkörper vergrößert sich mit der Zeit.
 2. Es wird ein ähnlicher Vorgang bei Stärkelösungen beobachtet. Es wird die Abhängigkeit der Reaktion von dem kolloiden Zustand der Stärkelösung nachgewiesen.
 3. Es wird die Oberflächenspannung von Eiweiß und Albumosen bzw. Albumosen + Peptongemischen gemessen, dabei werden ähnliche Vorgänge beobachtet, wie in den beiden vorigen Fällen.
 4. Es wird auseinandergesetzt, inwieweit die beobachteten Reaktionen mit der Bildung kolloider Komplexe erklärt werden können.
 5. Von den gallensauren Salzen konnte gezeigt werden, daß sie von Eiweiß gebunden, aber von Stärke nicht gebunden werden.
-

Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. IX.

Über kolloide Komplexe des Cholesterins.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: Franz Tangl.]

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Wie die Untersuchungen von Traube¹⁾ und anderen gezeigt haben, ist die Oberflächenspannung der kolloiden Lösungen in sehr vielen Fällen ein sehr empfindlicher Anzeiger jener Veränderungen, die sich in den Lösungen abspielen.

Da andererseits im Tierkörper eine sehr große Oberflächenentfaltung stattfindet, kann diese — mit den uns bekannten anderen Kräften verglichen — zwar kleine Kraft eine große Wirkung ausüben.

Nach den Angaben von Iscovesco²⁾ und Czapek³⁾ vermindert das Cholesterin die Oberflächenspannung des Wassers, obwohl es sich wie ein hydrophobes Kolloid verhält. Ich habe diese Frage schon wegen ihres theoretischen Interesses halber näher untersucht.

Ich habe mit zwei Präparaten von Merck gearbeitet, die sich nicht ganz gleich verhielten. Als ich nämlich von Präparat I ein wenig mit 40° warmem Wasser digerierte, erhielt ich eine Lösung, die die Oberflächenspannung des Wassers ziemlich stark herabsetzte. Als ich die Digestion mit lauwarmem Wasser

¹⁾ Kolloidchem. Beihefte 1912.

²⁾ Iscovesco, Compt. rend. Soc. Biol. 62, 630.

³⁾ Czapek, Über eine Methode zur direkten Bestimmung der Oberflächenspannung der Plasmahaut von Pflanzenzellen S. 67.

mehrmals wiederholte, konnte ich mittels Alkohol eine Suspension darstellen, die die Oberflächenspannung des Wassers kaum beeinflußt hat.

(Die Darstellung der Cholesterin-Suspension habe ich in der Weise vorgenommen, daß ich das Cholesterin in Alkohol gelöst habe, und dann die Lösung tropfenweise in destilliertes Wasser einfließen ließ. Es entstand eine weiße, milchige, undurchsichtige Lösung. Diese wurde am Wasserbade so lange verdampft, bis kein Alkohol vorhanden war. Allerdings fiel dabei ein Teil des Cholesterins aus der Lösung aus.)

Aus dem Merckschen Präparat II konnte direkt mittels Alkohol eine Lösung erhalten werden, die die Oberflächenspannung nicht beeinflußt hat¹⁾.

Es wurde auch versucht, mittels Aceton Cholesterinlösungen in der vorher beschriebenen Weise darzustellen, aber es gelingt nicht so gut wie mit Alkohol. Die erhaltenen Lösungen zeigten eine allerdings ganz minimale Oberflächenspannungs-erniedrigung, die wahrscheinlich auf Verunreinigungen des Acetons zurückgeführt werden kann, da ich aus demselben Präparat mit Alkohol keine Oberflächenspannungs-erniedrigung erhalten habe.

In der folgenden Tabelle sind einige diesbezügliche Daten angegeben. Die Oberflächenspannung wurde mit dem Traubeschen Stalagmometer gemessen.

Tabelle I.
Tropfenzahl des dest. Wassers 43,8.

Cholesterinlösungen	Tropfen- zahl
Aus Präparat I Merck	51,2
5ccm von I + 5 Tr. $\frac{n}{10}$ -KOH	50,8
5ccm von I + 5 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl	50,6
Aus Präparat I (nach Reinigung) . . .	44,2
Aus Präparat II mit Aceton	44,3
Aus Präparat II mit Alkohol	43,8

¹⁾ Ich wollte auch untersuchen, was im Präparat I die Verunreinigung sein konnte, aber ich konnte wegen zu geringer Mengen des Materials nur soviel finden, daß sie keine Seife bzw. Gallensäure oder Salz derselben, überhaupt kein Elektrolyt sein kann (auch nicht Lecithin), denn durch Zugabe von Säure und Lauge veränderte sich die Oberflächenspannung nicht.

In den weiteren Versuchen habe ich die Mischungen von Cholesterinlösungen mit Seifen- bzw. Lecithinlösungen untersucht, da manche physiologische Untersuchungen auf mannigfaltige Wechselwirkungen hingewiesen haben.

I. Cholesterin- + Seifenlösungen.

Eine Angabe konnte ich bei Iscovesco¹⁾ finden, daß durch die Seifenlösungen die Oberflächenspannung der Cholesterinlösungen nicht so stark erniedrigt wird als die des destillierten Wassers.

Tabelle II.
Cholesterin + Seifenlösung.

Cholesterinlösung	Tropfen- zahl			Tropf- zahl	Destilliertes Wasser	Tropf- zahl
	1. Vers.	2. Vers.				
5 ccm Cholesterinlösung . .	44,3	44,2	5 ccm Cholesterinlös.	44,3	5 ccm dest W.	43,8
+ 5 ccm 0,1%iges Na-Oleat . .	53,2	53,0	+ 5 ccm 0,1% Na-Oleat	53,0	+ 5 ccm 0,1%iges Na-Oleat . .	52,6
+ 5 Tr. ⁿ / ₂₀ -KOH	49,8	50,0			+ 5 Tr. ⁿ / ₂₀ -KOH	52,8
+ 10 " "	50,8	51,0	sogleich		+ 25 " "	54,8
+ 15 " "	51,4	51,4	mit		+ 50 " "	55,0
+ 25 " "	52,2	52,4	25 Tr. ⁿ / ₂₀ -KOH vers.	53,8		

Wenn ich eine Lösung von Merckschem Natriumoleat mit Cholesterinlösung bzw. destilliertem Wasser vermischt habe, konnte ich eine minimale Erhöhung der Oberflächenspannung bei der Cholesterinlösung wahrnehmen. Viel eklatanter wird der Versuch noch, wenn man die Cholesterin und Seife enthaltende Lösung mit wenig Lauge versetzt. Die Oberflächenspannung der Lösung wird größer, obwohl bekanntlich durch Zugabe von Lauge die Oberflächenspannung der Seifenlösungen kleiner wird. Vergrößert man den Zusatz von Lauge, so wird auch hier die Oberflächenspannung der Lösung vermindert; nur sehr minimale Mengen Lauge erhöhen die Oberflächenspannung.

Das kann auch die Ursache sein, daß Iscovesco¹⁾ eine größere Erhöhung der Oberflächenspannung erhielt; wahrscheinlich enthielten seine Lösungen minimale Mengen von Lauge.

¹⁾ Iscovesco, l. c.

Es handelt sich hier um Spuren von Lauge, denn eine Veränderung der Äquivalent-Konzentration um $\frac{n}{500}$ verursacht schon eine sehr große Veränderung der Oberflächenspannung.

Es ist bemerkenswert, daß man bei dieser Erscheinung eine Art Danysschen Effekt beobachten kann. Wenn man nämlich die ganze Lauge auf einmal zusetzt, so beobachtet man eine viel kleinere Oberflächenspannung, als wenn man das nach und nach in kleinen Portionen tut.

Eine ganz ähnliche Erscheinung haben Michaelis und Rona¹⁾ und ich bei Eiweiß und Seifenlösungen beobachtet; am einfachsten kann sie, wie ich es an anderer Stelle²⁾ näher erläutert habe, mit der Bildung von kolloiden Komplexen erklärt werden, auf deren Entstehung, wie auch diese Versuche zeigen, die H-Ionen-Konzentration einen sehr großen Einfluß hat.

Die dem Danysschen Effekte ähnliche Beobachtung ist aller Wahrscheinlichkeit nach dadurch verursacht, daß die Reaktion nicht momentan, sondern mit geringer Geschwindigkeit verläuft, wie ich das schon bei Mischungen von Seifen und Eiweiß beobachten konnte.

II. Cholesterin + Lecithinlösungen.

Da sich die Lecithinlösungen in mancher Hinsicht den Seifenlösungen sehr ähnlich verhalten, habe ich ihr Verhalten auch gegenüber Cholesterinlösungen untersucht. Das hat auch schon deswegen ein Interesse, da zwischen Cholesterin und Lecithin schon manche Forscher Wechselbeziehungen gefunden haben, die sie mit Bildung von Verbindungen zu erklären suchten³⁾.

Wenn man Lecithinlösungen mit Lauge versetzt, verhalten sie sich ebenso wie die Seifenlösungen: die Oberflächenspannung vermindert sich sehr stark. Durch Säuren wird das Lecithin geflockt, und es wird dadurch die Oberflächenspannung vergrößert, bis es die des Wassers erreicht. Diese Angaben von

¹⁾ Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 41, 165.

²⁾ Siehe Mitteilung VIII in diesem Hefte.

³⁾ Über die Beeinflussung der Oberflächenspannung von Wasser durch Lecithinlösungen werde ich demnächst berichten. Einige diesbezügliche Versuche siehe bei Traube, Kolloidchem. Beihefte.

Traube¹⁾ konnte ich vollkommen bestätigen. Ebenso, daß die Oberflächenspannung der Lecithinlösungen sehr veränderlich ist. Über die Größenordnung der Erscheinungen orientieren die Daten der Tabelle III.

Tabelle III.
Cholesterin + Lecithin.

Cholesterinlösung	Tr.-Z.	Dest. Wasser	Tr.-Z.
5 ccm Cholesterinlösung . .	44,5	5 ccm dest. Wasser . . .	43,8
+ 1 ccm 1%ige Lecithinlös.	48,4	+ 1 ccm Lecithinlösung .	48,4
+ 5 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH	51,8	+ 1 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH . . .	50,8
+ 10 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH	51,4	+ 5 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH . . .	58,4
+ 40 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH	49,2	+ 15 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH . . .	58,3
		+ 25 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH . . .	55,6

Wenn man aber statt destillierten Wassers Cholesterinlösung nimmt, ist die nach dem Laugenzusatz beobachtete Verminderung immer viel kleiner. Diese Erscheinung ist aber nicht vollkommen analog mit der in Cholesterin + Seifenlösung sich abspielenden. Hier kann man auch nicht direkt den Schluß auf Bildung kolloider Komplexe ziehen, denn die Möglichkeit, daß Cholesterin Lauge bindet, erklärt ebensogut die Erscheinung. Letzteres konnte aber bei den Cholesterin + Seifenmischungen durch die Erhöhung der Oberflächenspannung auf Zusatz von kleinen Mengen von Lauge (also die umgekehrte Erscheinung wie bei reinen Seifenlösungen) ausgeschlossen werden.

III. Cholesterin-Saponinlösungen.

Eine dritte Substanz, deren Wirkung durch Cholesterin aufgehoben werden kann, ist das Saponin. Wir wissen, daß die hämolysierende Wirksamkeit von Saponinlösungen durch Cholesterin aufgehoben wird. Es schien deswegen nicht uninteressant, die Oberflächenspannungsverhältnisse des Saponins näher zu untersuchen.

Die Saponine sollen, wie das schon ihr Name anzeigt, sich ähnlich den Seifen verhalten. Es ist auch schon längst bekannt, daß sie ebenso wie die Seifen schäumende, kolloide wässrige Lösungen bilden. In quantitativen Beziehungen verhalten sie sich aber nicht unwesentlich anders.

¹⁾ Traube, l. c.; siehe auch bei Czapek, l. c.

Tabelle IV.
Tropfenzahl des dest. Wassers 43,8.

Natriumoleatlösung	Tr.-Z.	Saponinlösung	Tr.-Z.
0,1 %ige Lösung	54,4	1 %ige Lösung	48,2
		2 %ige Lösung	49,0
		3 %ige Lösung	49,2

Saponin erniedrigt allerdings auch die Oberflächenspannung des Wassers, aber in wesentlich geringerem Grade als die Seifen. Diese Erscheinung wurde auch schon von Czapek¹⁾ beobachtet. Ich kann dies mit meinen an Merck'schem Saponin gemachten Versuchen vollständig bestätigen. In der folgenden Tabelle sind die Oberflächenspannungen von Seifen- und Saponinlösungen verglichen.

Ein anderer wichtiger Unterschied liegt darin, daß Zusatz von Lauge die Oberflächenspannung der Seifenlösungen ziemlich stark herabsetzt, die der Saponinlösungen dagegen kaum beeinflusst. Säuren wirken gerade umgekehrt: sie setzen in Saponinlösungen die Oberflächenspannung eben umgekehrt wie bei Seifenlösungen ziemlich stark herab.

Wenn wir die wässrigen Saponinlösungen mit cholesterinhaltigen vergleichen, wie wir das vorher bei den Seifen- und Lecithinversuchen gemacht haben, finden wir, daß hier fast keine Oberflächenspannungserhöhung eintritt. Die Saponine scheinen sich also auch in dieser Beziehung anders zu verhalten als die Seifen. Das spricht gegen die Annahme, daß Cholesterin mit Saponin Kolloidkomplexe bildet, es kann also auch nicht diese Annahme zur Erklärung der Hämolysehemmung von Saponin durch Cholesterin herangezogen werden.

Tabelle V.

Saponinlösungen	Tropf.-Zahl	Cholesterin + Saponinlösungen	Tropf.-Zahl	Saponinlösung + $\frac{1}{10}$ -KOH	Tropf.-Zahl
10 ccm dest. Wasser .	43,8	10 ccm Cholesterin-L.	44,2	10 ccm dest. Wasser	43,8
+ 1 ccm 5 %ige Sap.-L.	48,0	+ 1 ccm 5 %ige Sap.-L.	48,2	+ 1 ccm 5 %ige Sap.-L.	48,1
+ 2 ccm 5 %ige Sap.-L.	48,7	+ 2 ccm 5 %ige Sap.-L.	48,6	+ 5 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH . .	48,2
+ 3 ccm 5 %ige Sap.-L.	49,0	+ 3 ccm 5 %ige Sap.-L.	49,0	+ 10 Tr. $\frac{1}{10}$ -KOH . .	48,2

¹⁾ Czapek, l. c.

Tabelle V (Fortsetzung).

Cholesterinlösung + Saponin + $\frac{n}{10}$ -KOH	Tropf.- Zahl	Saponinlösung + $\frac{n}{10}$ -HCl	Tropf.- Zahl	Cholesterin + Saponin- lösung + HCl	Tropf.- Zahl
10 ccm Cholesterin-L.	44,2	5 ccm dest. Wasser .	43,8	10 ccm Cholesterin-L.	44,2
+ 1 ccm Saponin-L. .	48,2	+ 1 ccm 5% ige Sap.-L.	48,0	+ 1 ccm 5% ige Sap.-L.	48,2
+ 5 Tr. $\frac{n}{10}$ -KOH . .	48,2	+ 5 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl . . .	50,4	+ 5 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl . . .	50,9
+ 10 Tr. $\frac{n}{10}$ -KOH . .	48,6	+ 10 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl . . .	50,9	+ 10 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl . . .	51,2
		+ 25 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl . . .	51,1	+ 25 Tr. $\frac{n}{10}$ -HCl . . .	51,0

Aus diesen Versuchen können wir in erster Reihe ersehen, wie feine Unterschiede des kolloidalen Zustandes durch Messung der Oberflächenspannung nachweisbar sind, und daß in sehr vielen Fällen ein Parallelismus zwischen Oberflächenspannungserscheinungen und physiologischen Wirkungen besteht.

Zweitens konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß in Seifen-Cholesterinmischungen, ebenso wie in Seifen-Eiweißmischungen, die Bildung von kolloiden Komplexen stattfindet, die sich mit der OH-Ionenkonzentration verändern.

Drittens wurde die Annahme bestärkt, daß zwischen Lecithin und Cholesterin sich auch ähnliche Komplexe bilden, die sich aber etwas anders verhalten als die vorher erwähnten.

Viertens wurde wahrscheinlich gemacht, daß ähnliche Komplexe zwischen Saponin und Cholesterin nicht entstehen.

**Stalagmometrische Studien an krystalloiden und
kolloiden Lösungen. X.**
Über die Einwirkung einiger Narkotica auf Lecithinlösungen.

Von
L. Berczeller.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: **Franz Tangl.**])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Die Untersuchungen von Calugareanu¹⁾ haben erwiesen, daß Chloroform (und auch Äther) auf Lecithinlösungen fällend wirken. Ich stellte mir die Aufgabe, die Erscheinungen dieser Fällungen mit der Messung der Oberflächenspannung zu verfolgen, da die Untersuchungen von Traube²⁾ erwiesen haben, daß auch manche andere Fällungsreaktionen mit der Veränderung (Wachsen der Oberflächenspannung) parallel verlaufen. Er konnte sogar zeigen, daß z. B. bei gewissen Farbstoffen schon viel eher eine Vergrößerung der Oberflächenspannung zu beobachten ist, bevor eine Fällung eintritt.

Lecithinemulsionen erniedrigen ziemlich stark die Oberflächenspannung des Wassers, wie das schon Traube³⁾ bemerkte.

Meine Messungen, die ich mit dem Traubeschen Stalagmometer ausführte, stimmen untereinander nicht so gut, wie bei anderen Oberflächenspannungsmessungen, wahrscheinlich weil die Emulsionen ziemlich labil sind. Deswegen mußte ich sehr viele parallele Bestimmungen machen. Immerhin beweisen die Versuche, daß die untersuchten Narkotica in allen Fällen die Oberflächenspannung der Lecithinemulsion erhöhen.

¹⁾ Calugareanu, diese Zeitschr. 29, 96.

²⁾ Traube, Kolloidchem. Beihefte 1913.

³⁾ Traube, l. c.

I. Lecithin + gesättigte wässrige Ätherlösung.

Tabelle I.

Lecithinlösung + gesättigte wässrige Ätherlösung.

Vers.-Nr.		Tropfenzahl der Lösung				Be-merkungen
1	5 ccm destilliertes Wasser . . .	43,8	—	—	—	
2	+ 1 ccm 1 ⁰ / ₁₀ ige Lecithinlösung .	47,4	—	—	—	
3	+ 5 Tr. ⁿ / ₁₀ -KOH	62,8	—	—	—	
4	Obige alkalische Lecithinlösung + 3 Tr. ges. wäss. Ätherlösung .	60,0	58,6	57,6	57,7	Nacheinander- folgende Mess. do.
5	+ 6 " " " " .	55,8	55,2	54,2	54,2	
6	+ 10 " " " " .	53,2	53,0	—	—	
7	+ 25 " " " " .	52,0	—	—	—	

Wie aus den Versuchen ersichtlich, ist die Wirkung schon einiger Tropfen der wässrigen Lösung von Äthyläther sehr groß. Wenn man nacheinander mehrmals die Oberflächenspannung der Lösung mißt, beobachtet man ein fortwährendes Steigen der Oberflächenspannung, was darauf hinweist, daß die Veränderung der Teilchengröße unter der Wirkung des Äthers nicht momentan stattfindet. Bei größeren Ätherkonzentrationen dürfte allerdings das Verdunsten des Äthers auch an dieser Erscheinung beteiligt sein.

II. Lecithin + wässrige Chloroformlösungen.

Tabelle II.

Lecithinlösung + gesättigte wässrige CHCl₃-Lösung.

Versuchs-Nr.		Tropfenzahl
1	5 ccm destilliertes Wasser	43,8
2	+ 1 ccm 1 ⁰ / ₁₀ ige Lecithinemulsion + 1 Tr. ⁿ / ₁₀ -KOH	58,8
3	Obige alkalische Lecithinlösung + 1 Tr. gesätt. wäss. CHCl ₃ . .	58,8
4	+ 5 " " " " . . .	57,8
5	+ 25 " " " " . . .	55,2
6	+ 100 " " " " . . .	50,4

Dieselbe Erscheinung wie beim Äther, nur, da Chloroform in Wasser viel weniger löslich ist als Äther, in viel geringerem Grade.

III. Lecithin + Chloralhydratlösungen.

Tabelle III.
Lecithinlösung + Urethan.

Vers.-Nr.	Dest. Wasser + Lecithinlösung	Tr.-Z.	Urethanlösung + Lecithinlösung	Tr.-Z.
1	5 ccm destilliertes Wasser .	43,8	5 ccm 5 ⁰ / ₁₀ ige Urethanlsg.	56,6
2	+ 1 ccm 1 ⁰ / ₁₀ ige Lecithinlsg.	63,2	+ 1 ccm Lecithinlösung .	59,6
	Differenz	19,4	Differenz	3,0

In diesem Falle sind die Veränderungen noch kleiner, aber wir können dennoch beobachten, daß die Oberflächenspannungsniedrigung des Lösungsgemisches viel kleiner ist als die Summe beider Komponenten.

IV. Lecithin + Äthylalkohollösungen.

Tabelle IV.
Lecithinlösung + Äthylalkohol.

Vers.-Nr.	Destilliertes Wasser	Tr.-Z.	Lecithinlösung	Tr.-Z.	Diff. ¹⁾
1	6 ccm dest. Wasser . .	44,0	5 ccm dest. Wasser + 1 ccm 1 ⁰ / ₁₀ ige Lecithinlsg.	63,0	19,0
2	+ 2 Tr. 96 ⁰ / ₁₀ igen Alkoh.	46,0	+ 2 Tr. 96 ⁰ / ₁₀ igen Alkoh.	64,4	18,4
3	+ 5 " " "	48,8	+ 5 " " "	65,2	16,4
4	+ 10 " " "	52,0	+ 10 " " "	66,4	13,4
5	+ 25 " " "	61,0	+ 25 " " "	70,6	9,6

Die Erscheinung ist der mit Chloralhydratgemischen beobachteten vollkommen ähnlich.

Diese Versuche beweisen also, daß in der Lecithin-emulsion auf Zusatz von Narkoticis eine Vergrößerung der Teilchen stattfindet, noch bevor eine sichtbare Fällung eintritt.

Da die Seifenlösungen sich in sehr vielen Beziehungen den Lecithin-emulsionen ähnlich verhalten, habe ich in dieser Richtung die Eigenschaften der Seifenlösungen untersucht. Zu meinen Versuchen habe ich Natriumoleatlösungen benutzt. Es hat sich gezeigt, daß man eine ähnliche Erscheinung auch bei Seifenlösungen beobachten kann. Die Oberflächenspannung der Seifenlösungen wird besonders durch Äther vergrößert, wie das der folgende Versuch zeigt.

¹⁾ Zwischen Lecithinlösung und destilliertem Wasser.

Tabelle V.

1. Natriumoleat + Chloroformlösung.

Versuchs-Nr.		Tropfenzahl
1	5 ccm 1%iges Natriumoleat . .	55,6
2	+ 5 Tr. gesätt. wäss. CHCl_3 . . .	55,4
3	+ 10 " " " " . . .	55,0
4	+ 25 " " " " . . .	53,8

2. Natriumoleat + Ätherlösung.

Vers.-Nr.	Natriumoleat	Tr.-Z.	Destilliertes Wasser	Tr.-Z.
1	5 ccm 1%iges Natriumoleat	60,4	5 ccm dest. Wasser . .	43,8
2	+ 5 Tr. ges. wäss. Ätherlösg.	61,2	+ 50 Tr. gesätt. wäss.	
3	+ 10 " " " "	61,4	Ätherlösung	56,6
4	+ 25 " " " "	61,0		
			Differenz	12,8

Allerdings ist diese Vergrößerung viel kleiner als bei Lecithin-emulsionen, wahrscheinlich deshalb, weil die Lecithinlösungen labiler, viel mehr kolloid sind als die Seifenlösungen. Sie zeigen auch bei dieser Fällung größere Labilität.

Die physiologische Bedeutung der Erscheinung liegt darin, daß die Lecithinlösungen dadurch, daß sie die Oberflächenspannung erniedrigen, sich in den Oberflächen der Zellen ansammeln und dadurch an der Bildung der Zelloberfläche hervorragend teilnehmen. Aus diesen Versuchen können wir schließen, daß bei der Narkose in den Gehirnzellen und in den anderen Körperzellen, wo nur Lecithinlösung vorhanden ist, die Zelloberfläche verändert wird, und zwar wird aus derselben Lecithin verdrängt resp. dessen Konzentration in der Zelloberfläche herabgesetzt.

Diese Versuche stehen in interessantem Zusammenhange mit den Versuchen von Czapek¹⁾ und seinen Schülern. Czapek hat nämlich gefunden, daß bei gewissen Pflanzenzellen in Gegenwart von oberflächenaktiven Substanzen die Diffusion anderer Stoffe in die Zellen oder aus den Zellen (es sei auf die Originalabhandlungen verwiesen) bei einer bestimmten Oberflächenspannung der oberflächenaktiven Substanzen stattfindet. Daraus hat er den Schluß gezogen, daß diese Substanzen eben bei dieser Konzentration die oberflächebildenden

¹⁾ Czapek, l. c.

Substanzen aus der Oberfläche verdrängen. In meinen Versuchen sehen wir diese Verdrängung des Lecithins aus der Oberfläche, was in diesem Falle wahrscheinlich durch Vergrößerung der kolloidalen Teilchen stattfindet. Nach Czapeks Versuchen üben auf Pflanzenzellen äquicapillare Lösungen gleiche Wirkungen aus.

Die Menge des Lecithins wird also durch Zusatz von Narkoticis in der Zelloberfläche verringert. Die Zellmembranen enthalten in der Narkose weniger Lecithin. Das verdrängte Lecithin kann sich nun zum Teil in der Zelle, zum Teil in den sie umspülenden Gewebssäften befinden, oder auch nur in einem dieser beiden.

Nach den Untersuchungen von Reicher¹⁾ und Nerking²⁾ soll ja die Menge der Lipoiden bei der Narkose im Serum sich vermehren, was damit erklärt wurde, daß das im Serum gelöste Narkoticum diese Lipoiden aus den Zellen auslaugt.

Was geschieht aber mit den im Blutplasma befindlichen Lipoiden?

Einige Versuche sprechen dafür, daß sie im Harn erscheinen.

Das konnte auch in der Tat sehr einfach mit der stalagmometrischen Methode nachgewiesen werden. Es wurde die Oberflächenspannung des Harns vor der Narkose und nachher mit dem Stalagmometer gemessen. Es konnte in sehr vielen Fällen — wenn auch nicht in allen — nachgewiesen werden, daß in dem Harn nach der Narkose oberflächenaktive Substanzen erscheinen.

Nach Äthernarkose ist die Oberflächenspannung des Harnes durch den ausgeschiedenen Äther auch erniedrigt, doch wurde derselbe erst durch einen starken Luftstrom verjagt.

In der folgenden Tabelle sind meine diesbezüglichen Versuche aufgezählt³⁾.

¹⁾ Reicher, Zeitschr. f. klin. Med. 1908, 235.

²⁾ Nerking, Münch. med. Wochenschr. 1909, 1475.

³⁾ Es ist auch interessant, daß durch das im Harn gelöste Narkoticum eine sehr große Erniedrigung der Oberflächenspannung hervorgerufen wird.

Tabelle VI.

Versuchs-Nr.	Tropfenzahlen				Bemerkungen
	A	B	A	B	
1	47,6	47,2	55,2	52,0	Äthernarkose
2	52,8	52,8	56,4	54,0	Äther + Chloroform
3	52,0	—	56,6	53,6	do.
4	49,8	—	52,0	—	Chloroform
5	53,2	—	51,6	—	do.
6	52,6	—	54,0	—	do.
7	54,4	54,2	55,2	55,4	Äther + Chloroform
8	54,0	—	56,6	53,4	do.
9	54,2	—	56,8	—	Chloroform
10	52,8	—	54,8	—	do.

A ohne Luftdurchleiten.

B mit „

Daß nicht in allen Fällen eine Oberflächenspannungs-erniedrigung des Harnes zu beobachten war, kann vielleicht damit erklärt werden, daß eben die Oberflächenspannung der ausgeschiedenen Lipoiden durch andere Substanzen sehr stark verändert wird, und wenn z. B. der Harn etwas sauer ist, so ist es möglich, daß Lecithin die Oberflächenspannung schon nicht mehr vermindert. Es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß verschiedene Kranke sich in dieser Hinsicht verschieden verhalten, oder daß die Ausscheidung der Lipoiden vom Narkoticum, von der Länge der Narkose usw. abhängt. Das muß noch untersucht werden. Auch muß noch durch direkte Bestimmung die erhöhte Ausscheidung der Lipoiden während der Narkose bewiesen werden; es ist ja möglich, daß andere nichtflüchtige Substanzen die Oberflächenspannungs-erniedrigung des Harnes verursachen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Narkotica erhöhen die Oberflächenspannung von Lecithinlösungen.
2. Nach der Narkose ist in vielen Fällen die Oberflächenspannung des Harnes durch nichtflüchtige Substanzen erniedrigt.

Ionenpermeabilität und Membranpotential.

Von

H. Rohonyi.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: F. Tánzl.])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

1.

Der Begriff der Ionenpermeabilität wurde zuerst von W. Ostwald¹⁾ entwickelt, der ihn in folgender Form aussprach: „.... es kann von einer Durchlässigkeit oder Undurchlässigkeit der Membran für bestimmte Salze nicht die Rede sein, wohl aber von einer solchen für bestimmte Ionen. Ferrocyan-kupfermembranen sind für Chlorkalium durchlässig, weil sie es für die Ionen Chlor und Kalium sind, sie lassen von Chlorbarium das Chlor durchgehen, nicht aber das Barium, und Kaliumsulfat scheint nicht durchzutreten, weil das Ion SO_4 die Membran nicht passieren kann.“

Walden, der die Diffusion der verschiedensten Elektrolyte durch verschiedene Membranen hindurch untersuchte, wollte die Richtigkeit der Ostwaldschen Auffassung auf Grund folgender Überlegungen entscheiden: Haben wir auf der einen Seite der Membran ein Salz, dessen positives Ion nicht, wohl aber das negative diosmieren kann, so wird im allgemeinen kein Durchtritt stattfinden; wir könnten jedoch denselben ermöglichen, wenn wir 1. zu dem fraglichen Salz einen anderen Elektrolyten geben, dessen positives Ion, nicht aber das negative, mit Leichtigkeit hindurchwandert; es würde dann eine entsprechende Anzahl der positiven Ionen dieses Salzes mit den negativen des ersteren Elektrolyts hindurchdiffundieren; 2. können wir aber auch zu der Flüssigkeit auf der anderen Seite der Membran ein Salz geben, von dem ebenfalls nur das negative Ion diosmieren kann, es müssen alsdann beide negativen Ionen ohne eine Scheidung der Elektrizitäten, durch einen gegenseitigen Diffusionsvorgang in gleicher Zahl hindurchtretend, ihre Stellung ver-

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 7.

tauschen. Die Ergebnisse seiner auf Grund der obigen Betrachtungen vollführten, wie auch anderweitigen Versuche „scheinen nicht die Annahme zu rechtfertigen, daß bei den Elektrolyten die osmotischen Vorgänge wesentlich durch die Ionen bedingt werden: es erscheint alsdann als nicht unwahrscheinlich, daß gerade die Salze (Elektrolyte) bzw. die chemischen Verbindungen als solche es sind, deren Durchgangsfähigkeit durch gegebene Membranen in Frage kommt . . .“.

Ein anderer Weg bei der Untersuchung dieser Annahmen kann darin bestehen, daß wir die auf beiden Seiten der halbdurchlässigen Membran auftretende Potentialdifferenz untersuchen, wenn auf der einen Seite eine Salzlösung sich befindet, deren positive und negative Ionen der Voraussetzung gemäß eine sehr verschiedene Wanderungsgeschwindigkeit beim Durchgang durch die Membran besitzen. Es gelangen unter solchen Umständen — es sei die Membran z. B. für positive Ionen undurchlässig, für negative dagegen durchlässig — die negativen Ionen — entsprechend ihrem osmotischen Druck — in die Membran. Hierdurch wird aber eine Scheidung der Elektrizitäten bewirkt und die entstehenden elektrostatischen Kräfte verhindern, wenn sie dem osmotischen Druck der negativen Ionen gleich geworden sind, den weiteren Durchtritt derselben. Das Ergebnis des Vorganges ist eine elektrische Doppelschicht an der Membran, deren positive Seite auf Seite der Lösung, die negative auf Seite des Wassers sich befindet.

Solche Untersuchungen stellte Brünings an Ferrocyankupfermembranen an; er stellte die Membranen in Chromgelatine gebettet her, derart, daß sie die Öffnungen kleiner Glasröhren verschlossen. Er goß in die Röhre die eine der membranogenen Lösungen und stellte hierauf das Ganze in die andere membranogene Lösung; in die beiden Lösungen tauchten n-KCl-Kalomelektroden, die mit einem Galvanometer in Verbindung standen. Brünings fand, daß derartige Systeme einen Strom von beiläufig 0,100 V. lieferten, im Falle die membranogenen Lösungen isosmotisch waren; die EMK war gleichgroß bei den verschiedensten Konzentrationen (0,5 n bis 0,005 n); als positiv erwies sich immer die Seite der Kupferlösung.

Folglich ist die EMK, bemerkt Brünings, der Konzentration des diffusiblen K^+ nicht proportional, wie dies die Ostwaldsche Theorie solcher Elemente fordert, sondern zwischen weiten Grenzen unabhängig von jener. Was man anstatt der Ionenpermeabilität für die Quelle der Potentialdifferenz auf beiden Seiten der Membran ansehen soll, darüber hat Brünings keine Meinung ausgesprochen.

Die experimentellen Untersuchungen über Ionenpermeabilität sind durch die erwähnten erschöpft. Der geringen Zahl

der durch sie erbrachten Daten und der Unbestimmtheit der aus ihnen gezogenen Folgerungen gegenüber spielt in der Physiologie der Zellmembran der Begriff der Ionenpermeabilität — noch dazu in ganz entschiedener Form — eine ungemein große Rolle.

Seitdem Nernst seine Theorie der in der Grenzfläche zweiphasiger Flüssigkeitsketten auftretenden diffusionsselektromotorischen Kräfte auf die elektrische Polarisierung der Organe in Anwendung brachte mit dem Hinweis, daß die Zellmembranen in den Geweben ein zweites Lösungsmittel vorstellen und auf Grund dieser Voraussetzung einige Gesetzmäßigkeiten der elektrischen Reizbarkeit in vorzüglichem Einklang mit den Versuchsdaten entwickelte, seitdem erklären Bernstein, Höber u. a. alle Erscheinungen der Elektrophysiologie, die Kataphoresis der roten Blutkörperchen usw. durch die Ionenpermeabilität.

Durch die Annahme, daß in der Zellmembran der Muskelfaser, der Apfelfelle usw. die Kationen der Elektrolyte eine viel größere Wanderungsgeschwindigkeit besitzen als die Anionen (Kationenpermeabilität), daß in der Plasmahaut der roten Blutkörperchen die Geschwindigkeit der Anionen eine viel größere sei, als die der Kationen (Anionenpermeabilität), daß durch gewisse Einflüsse (z. B. Salze, CO_2 usw.) das Verhältnis der Geschwindigkeiten ein entgegengesetztes werden kann, gelang es in der Tat, eine große Zahl von Erscheinungen zu erklären. Die direkte Ermittlung dieser Diffusionsgeschwindigkeit der Ionen durch Membranen hindurch war bisher natürlich unmöglich. Dieser Umstand, statt zur Vorsicht zu gemahnen, gestattete im Gegenteil unbeschränkte und unkontrollierbare Annahmen, so daß die Änderung des Stromes eines Organs um einige Millivolt, die Umkehrung einer Kataphorese für genügend erachtet wurde, um über die Ionenpermeabilität der Zelle sowie über deren Änderung weitgehende Folgerungen zu ziehen. Gewiß ist dies der Grund, weshalb einige Forscher, in Einsicht der Unfruchtbarkeit solcher unberechtigter Annahmen, die physiologischen Ströme anders, als auf Grund einer Phasengrenzkräft, zu erklären suchten (Cremer, Beutner u. a.).

Wenn die Ionenpermeabilität einer Membran nichts anderes bedeutet, als daß durch den elektrischen Strom nur das eine Ion des Elektrolyts durch sie hindurchdiffundiert, das andere

hingegen nicht — so widerspricht nichts der Anwendung dieses Begriffes auf Grund des Ostwaldschen Versuches auf die Ferrocyankupfermembran. Doch gehen die mit dem Begriffe der Ionenpermeabilität operierenden Forscher viel weiter, wenn sie aus einer solchen Verschiedenheit im Verhalten der Ionen ohne weitere Berechtigung auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Membrandiffusion der Ionen Schlüsse ziehen. Vor allem sind Voraussetzungen, die mit sehr verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeiten operieren, an sich schon sehr bedenklich. Wir wissen, daß in wässerigen Lösungen die Wanderungsgeschwindigkeit der verschiedenen Ionen, ja sogar auch die der geladenen Kolloidpartikel, allgemein derselben Größenordnung sind. Auch in nichtwässerigen Lösungen ist nach den bisherigen Messungen die Größenordnung der Wanderungsgeschwindigkeit gleich derjenigen in wässerigen Lösungen; das Verhältnis der Wanderungsgeschwindigkeiten der verschiedenen Ionen in verschiedenen Lösungsmitteln — und darauf kommt es bei der Permeabilität an — ist noch weniger variabel.

Daß ein Zusammenhang zwischen Permeabilität und Wanderungsgeschwindigkeit keineswegs notwendig bestehen muß, erhellt aus folgender Überlegung. Machen wir die Voraussetzung, die Impermeabilität der Membran gegenüber dem Elektrolyten bestehe darin, daß dieselbe den Elektrolyten sehr schlecht löst. Stellen wir uns ein System vor, das aus einer konzentrierten und verdünnten Lösung von AgJ (in einem unbekannten Lösungsmittel) besteht, in welchen Lösungen AgJ weitgehend dissoziiert ist; zwischen die beiden Lösungen sei eine Wassermembran geschaltet. Durch diese Membran hindurch wird nun kein Konzentrationsausgleich stattfinden, sie wird absolut impermeabel sein (denn das Produkt $(C_{Ag} \cdot C_J)$ ist selbst in der verdünnten Lösung größer als in Wasser, wo es verschwindend klein ist; oder wenn wir in der verdünnten Lösung die Konzentration von AgJ ursprünglich noch kleiner wählten, so wird nur so lange AgJ durch die Membran hindurchdiffundiert, bis es in der verdünnten Lösung dieselbe Konzentration erreicht hat, die es in der Membran besitzt, wonach die Diffusion aufhört). Lassen wir nun durch dieses System einen Strom hindurchgehen, so erscheint in der Wassermembran ein immer größer werdender Niederschlag von AgJ. Die Wassermembran ist also für AgJ undurchlässig, obgleich die Wanderungsgeschwindigkeiten der Ionen Ag^+ und J^- normal sind.

Auf Grund derselben Annahme (daß nämlich die Permeabilität auf Löslichkeit beruht) wird es leicht, ein System zu konstruieren, in dem auch die Erscheinung der Ionenpermeabilität vor sich geht. Man löse $AgNO_3$ und KJ in einem in Wasser unlöslichen Lösungsmittel; zwischen beide Lösungen sei eine mit AgJ gesättigte Wasserschicht gebracht. Es

leuchtet ein, daß diese Schicht durchlässig ist für die Ionen NO_3^- und K^+ , gänzlich undurchlässig dagegen für Ag^+ - und J^- -Ionen; dabei machen wir noch die Voraussetzung, daß die Wanderungsgeschwindigkeit des Ag^+ und J^- in beiden Lösungsmitteln die gleiche ist. Die in diesem System auftretenden EMKe müssen auf Grund ganz anderer Voraussetzungen berechnet werden, als sie nach den Ostwaldschen ($u = 0$, $v' = 0$) berechnet wurden.

Wie wir wissen, nimmt durch den Durchgang des elektrischen Stromes durch ein Ferrocyanpuffersystem die Membran an Umfang zu, es handelt sich um eine neue Bildung vom Niederschlag, so wie wir es auch in den beiden erdachten Systemen zu erwarten hätten. Eine der bei den Ostwaldschen Versuchen beobachteten, durch Ströme von hoher Spannung (20 Volt) bewirkten Kupferausscheidung entsprechende Ausscheidung von metallischem Silber würde natürlich in den analogen Systemen nicht erfolgen; es würde sich höchstens $\text{Ag}(\text{OH})$ und HJ bilden. Um uns eine Ausscheidung von reinem Metall an der Membran vorstellen zu können, müssen wir zur Annahme greifen, daß die Leitung des Stromes durch die Membran wie bei den Leitern erster Klasse geschieht, nämlich derart, daß die Membran keine Elektrolyse erleidet. Zu dieser Annahme sind wir aber ebenso gezwungen, wenn wir die Ionenpermeabilität durch Löslichkeit der Ionen oder deren Wanderungsgeschwindigkeiten erklären wollen.

Ebenso verhält es sich mit der Theorie des „Membranäquilibrium“ und der „Membranhydrolyse“, die von F. G. Donnan entworfen und teilweise auch durch Messungen bestätigt wurde. Seine Daten und Berechnungen behalten ihre Richtigkeit auch in dem Falle, daß wir die „Ionenpermeabilität“ aus der verschiedenen Membranlöslichkeit der Molekeln ableiten. Ein Typus der Donnanschen Systeme ist z. B. der folgende: $\text{NaR} \mid \text{Membran} \mid \text{NaCl}$, wo R^- ein impermeables Ion vorstellt, Na^+ und Cl^- hingegen permeabel sind. Im Gleichgewicht wird das System sich folgendermaßen gestalten:



in welchen die beiderseitige Ionenkonzentration von dem ursprünglichen Konzentrationsverhältnisse abhängt. Zum Zustandekommen dieses Gleichgewichts genügt die Voraussetzung, daß die Membran die undissoziierten NaR -Molekeln wenig (nicht) löst, die, wie einleuchtet, auf keinerlei theoretische Schwierigkeiten stößt. Dieselbe Voraussetzung genügt vollständig, um auch die Membranhydrolyse qualitativ und quantitativ zu erklären.

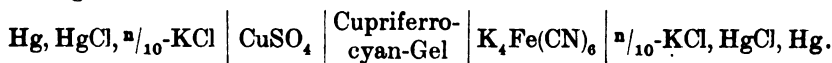
Es sind außer diesen das Lösungsvermögen der Membranen betreffenden Voraussetzungen auch noch andere möglich, um die Tatsache der Ionenpermeabilität zu erörtern, ohne über die Wanderungsgeschwindigkeiten der Membrandiffusion unberechtigte Annahmen machen zu müssen. Auch in dem Falle, wenn

z. B. das eine der differierenden Ionen durch chemische Reaktion oder durch Adsorption in der Membran gebunden wird, müßte die Erscheinung der Ionenpermeabilität auftreten. Bringt man mit Anionen geladene Kolloide oder grobsuspendierte Teilchen in eine Lösung eines Elektrolyts, so geben die Teilchen ihr Anion ab, um das gelöste andere Anion aufzunehmen; sie sind also „anionpermeabel“, ohne daß von einer Membrandiffusion auch nur die Rede sein könnte.

Sind aber diese Annahmen bezüglich der Membrandiffusionsgeschwindigkeiten der Ionen überflüssig oder unzulässig, was ist dann die Quelle jener EMK, die an den beiden Seiten der mit Elektrolytlösungen umgebenen semipermeablen Membranen auftritt? Meine folgenden Untersuchungen hatten die Beantwortung dieser vom elektrophysiologischen Standpunkte aus wichtigen Frage zur Aufgabe.

2.

Ich setzte vor allem solche Flüssigkeitsketten zusammen, die Brünings¹⁾ gemessen hat und deren Zusammensetzung folgende war:



Verlässliche Häutchen zu verfertigen, in der Weise, wie sie Brünings erzeugte, nämlich in Chromgelatine gebettet, ist sehr umständlich. Zudem ist ein solches Häutchen nicht nur eine Ferrocyankupferhaut, sondern zugleich auch Gelatinemembran, welcher Umstand die Eindeutigkeit des Experiments problematisch machen kann. Ich habe statt dessen zur Erzeugung der Membran das folgende sehr einfache, bequeme und rasche Verfahren angewendet und für meine Zwecke geeignet gefunden: Zwei Bechergläser stehen nebeneinander, das eine mit $\frac{m}{1}\text{-CuSO}_4$, das andere mit $\frac{m}{1}\text{-K}_4\text{Fe(CN)}_6$ gefüllt; das Niveau der einen Lösung (meist CuSO_4) war um 1 bis 2 mm höher. Eine Π -förmig gebogene feine Glascapillare tauchte ich mit dem einen Schenkel in die Kupferlösung, füllte die Capillare damit und brachte den anderen Schenkel in die Ferrocyanlösung. Das durchdringende Kupfertröpfchen überzieht sich sogleich mit einer Ferrocyankupferhaut, und wenn man jetzt in die zwei Lösungen

¹⁾ l. c.

zwei $\frac{m}{10}$ -KCl-Kalomelektroden taucht und diese durch ein Galvanometer (oder ein Capillarelektrometer) verbindet, so mißt man sofort, oder in 1 bis 2 Minuten, eine elektromotorische Kraft von 0,080 bis 0,095 Volt; die Cu^+ -Lösung ist positiv, die Ferrocyanlösung negativ. Diese Einrichtung erbringt also ungefähr dasselbe Ergebnis, das die in Chromgelatine eingebetteten festen Häutchen erbrachten. (Die Ursache der Differenz von 0,005 bis 0,020 Volt werden wir später besprechen.)

Die so gemessene elektromotorische Kraft zeigt mit der Zeit eine gewisse regelmäßige Änderung: nach Bildung der Membran nimmt sie kürzere oder längere Zeit zu (1 bis 10 Min.), dann bleibt sie eine Zeitlang bei diesem Maximum konstant, um nachher eine unregelmäßige Abnahme zu zeigen. Die Geschwindigkeit der Steigerung steht mit der Konzentration der Lösungen im Zusammenhang und ist um so größer, je dichter die Lösungen sind.

Das Steigen und Abnehmen wurde auch von Brünings wahrgenommen, bei seinen Experimenten aber war der Verlauf der Veränderung von weit längerer Dauer. In nachstehendem habe ich, als für eine gewisse Zusammenstellung charakteristischen Wert, stets die maximale elektromotorische Kraft angenommen.

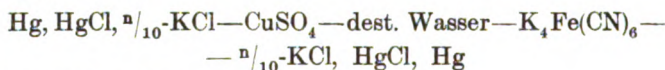
Bei Änderung der Konzentration der Lösungen CuSO_4 und $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ machte ich die Wahrnehmung, daß man nicht nur den absoluten Wert der Konzentrationen, sondern auch das Verhältnis der Konzentration der beiden Salze in weiten Grenzen ändern kann (die untere Grenze bildete jene Konzentration, bei der eben noch eine Membran entstanden ist), ohne daß die maximale elektromotorische Kraft sich wesentlich ändern würde. Die in nachstehender Tabelle angeführten Werte von π (= elektromotorische Kraft) sind Durchschnittswerte aus mehreren Messungen, deren Maxima um 0,002 bis 0,004 Volt differierten.

Molekulare Konzentration der Lösungen		π
CuSO_4	$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	Volt
$\frac{m}{1}$	$\frac{m}{1}$	0,090
$\frac{m}{1}$	$\frac{m}{20}$	0,094
$\frac{m}{1}$	$\frac{m}{50}$	0,085
$\frac{m}{1}$	$\frac{m}{100}$	0,088
$\frac{m}{20}$	$\frac{m}{20}$	0,080
$\frac{m}{30}$	$\frac{m}{1}$	0,088
$\frac{m}{100}$	$\frac{m}{1}$	0,088

Als ich statt CuSO_4 -Lösung Lösung von $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ oder $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ nahm, waren die Resultate dieselben.

Dementsprechend sind also die elektromotorischen Kräfte derartiger Ketten tatsächlich nicht nur vom Verhältnis der Konzentrationen, sondern auch von der Größe der Konzentration der membranogenen Lösungen unabhängig. Den Ursprung dieser Membranpotentiale finden wir sofort heraus, wenn wir im System die semipermeable Membran durch dest. Wasser ersetzen. Dies geschieht derart, daß wir zwischen die zwei, die membranogene Lösung enthaltenden Gläser ein drittes Glas, mit 150 bis 100 ccm dest. Wassers stellen und durch dieses die membranogenen Lösungen mittels Glascapillaren oder noch besser mit Baumwollfäden verbinden. Dieses System entwickelt elektromotorische Kräfte derselben Richtung und Größe, die von den Konzentrationen ebenso unabhängig sind, als wenn zwischen den Lösungen eine semipermeable Membran vorhanden wäre.

Diese Kette



gab folgende Werte:

Konzentration der Lösung		EMK in Volt
CuSO_4	$\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$	
$\frac{m}{10}$	$\frac{m}{10}$	0,098
$\frac{m}{30}$	$\frac{m}{30}$	0,084
$\frac{m}{30}$	$\frac{m}{1}$	0,088
$\frac{m}{1}$	$\frac{m}{30}$	0,090

In diesen Systemen ist keine Membran vorhanden; bei der Messung diffundiert höchstens soviel Salz in das dest. Wasser, daß das entstehende Kupferferrocyan die Lösung etwas rot färbt.

Wir wollen nunmehr auf Grund des Vorhergesagten vorläufig annehmen (später folgen auch noch andere Beweise), daß bei den Experimenten mit der Membran und denen mit dest. Wasser die Quelle der gleichgroß gefundenen elektromotorischen Kräfte dieselbe ist. Nachdem überall wässrige Medien die Lösungsmittel sind, müssen offenbar die Wanderungsgeschwindigkeiten im ganzen System dieselben sein. Ferner liegt es auf der Hand, daß bei diesem Experiment auch Phasengrenzkraftpotentiale nicht mitwirken.

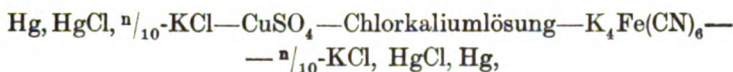
Wenn wir im System mit dem destillierten Wasser den KCl-Gehalt der ableitenden Kalomelektrode ändern, so zwar, daß diese auf beiden Seiten gleich bleiben mögen, so werden wir die Wahrnehmung machen, daß sich die elektromotorische Kraft des Systems wesentlich verändert:

KCl-Gehalt der beiden Kalomelektroden	EMK in Volt
$\frac{n}{1}$	0,128
$\frac{n}{10}$	0,105
$\frac{n}{100}$	0,058
$\frac{n}{1000}$	0,051

Bei allen vier Experimenten war die Konzentration von $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ und $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ dieselbe, d. i. $\frac{m}{5}$.

Die elektromotorische Kraft ist, wie wir ersehen, um so größer, je konzentriertere KCl die ableitenden Elektroden enthalten.

Wenn wir an Stelle des dest. Wassers KCl-Lösungen stellen,



so messen wir folgende elektromotorischen Kräfte.

(Die Kalomelektroden haben, wie in nachfolgenden Fällen durchwegs, $\frac{n}{10}$ -KCl enthalten; die Kupfer- und Ferrocyan-lösungen waren von der Konzentration $\frac{m}{5}$.)

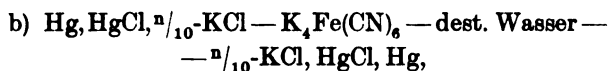
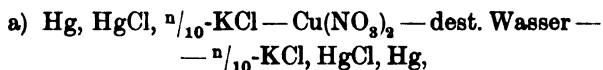
Konzentration der an Stelle des dest. Wassers befindlichen Lösg. an KCl	EMK in Volt
0 (dest. Wasser)	0,105
$\frac{n}{1000}$	0,065
$\frac{n}{200}$	0,042
$\frac{n}{50}$	0,025
$\frac{n}{10}$	0,000

Die elektromotorische Kraft nimmt also bei Zunahme des Gehalts der verbindenden Lösung an KCl ab.

Aus den Daten der vorstehenden zwei Tabellen geht hervor, daß die Größe der elektromotorischen Kraft des Systems davon abhängt, welcher Konzentration die Salzlösungen auf den beiden Seiten der Kupfer- bzw. Ferrocyan-Lösungen sind.

Die elektromotorische Kraft ist maximal, wenn die Konzentrationsdifferenz der die Kupferlösung bzw. Ferrocyanlösung umgrenzenden KCl-Lösungen maximal ist ($m/1$ -KCl—dest. Wasser), und ist gleich Null, wenn die Konzentrationsdifferenz derselben Null ist ($n/10$ — $n/10$).

Wenn wir also die zwei Seiten der Salzlösung durch KCl-Lösungen verschiedener Konzentration (z. B. 0 und $n/10$) verbinden:



so müssen wir solche elektromotorische Kräfte erhalten, die den laut Tabellen I und II gefundenen elektromotorischen Kräften gleich sind. In der Tat haben die Messungen erwiesen, daß die elektromotorische Kraft des Systems a) (sofort gemessen) 0,045 bis 0,040 Volt [Cu(NO₃)₂ positiv], jene des Systems b) (sofort gemessen) 0,050 bis 0,040 Volt [K₄Fe(CN)₆ negativ] ist; die Summe der beiden ist 0,080 bis 0,095 Volt, so daß die Seite Cu(NO₃)₂ positiv ist — was mit den Daten der erwähnten Tabellen übereinstimmt.

Wenn ich im System a) oder b) die Konzentration der Kupferlösung bzw. Ferrocyanlösung zwischen $m/1$ und $m/100$ ändere, so ändert sich die sofort gemessene elektromotorische Kraft nicht wesentlich.

Als ich den KCl-Gehalt der ableitenden Elektrode in den Membransystemen (S. 236) änderte, hatte ich Veränderungen der elektromotorischen Kraft derselben Richtung und Größe wahrgenommen, wie in den Systemen mit destilliertem Wasser (Tabelle S. 238). Die Änderung des Salzgehaltes der Membran zu messen ist nicht möglich; später werden wir Erscheinungen kennen lernen, die höchstwahrscheinlich mit diesen Änderungen zusammenhängen. Hier bemerke ich nur, daß die (S. 237) erwähnte unregelmäßige Abnahme der elektromotorischen Kraft der Cu(Membran)Ferrocyan-Kette damit zusammenhängen dürfte, daß der Salzgehalt der Membran (im Laufe der Reaktion entsteht K₂SO₄) immerfort zunimmt.

3.

Tower¹⁾ hat zum erstenmal erörtert, daß das Diffusionspotential zwischen zwei verschieden konzentrierten Lösungen irgendeines Elektrolytes verringert werden kann, wenn die zwei Lösungen durch irgendeine KCl- (oder NaCl- oder NaNO₃-) Lösung untereinander in Berührung kommen; das Diffusionspotential verschwindet ganz, oder beinahe ganz, wenn die KCl-Lösung konzentriert ist (2 n, n), nimmt mit der Verdünnung immer zu, bis es endlich den der unmittelbaren Berührung entsprechenden Wert erreicht. Tower maß die diffusionselektromotorische Kraft der Kette $\frac{n}{10}$ -HNO₃—n-KCl— $\frac{n}{100}$ -HNO₃, indem er die KCl-Lösung fortschreitend verdünnte. Die Änderung des Diffusionspotentials zwischen $\frac{n}{10}$ -HNO₃—KCl, sowie zwischen KCl— $\frac{n}{100}$ -HNO₃ berechnete er nach der Planckschen allgemeinen Formel. Da die Plancksche Gleichung transzendent ist, so konnte sie nur durch langwieriges Probieren aufgelöst werden. Daß aber die Berechnung richtig war, beweist der Umstand, daß die Summe der so ausgerechneten zwei Diffusionspotentiale mit der gemessenen elektromotorischen Kraft der Kette übereinstimmte. Tower hat so die Größe der Diffusionspotentiale zwischen Lösungen KCl, NaCl, NaNO₃ verschiedener Verdünnung und HNO₃-, HCl- und Zn(NO₃)₂-Lösungen gewisser Konzentration ($\frac{n}{10}$, $\frac{n}{50}$, $\frac{n}{100}$) ausgerechnet. Ich will hier einige dieser Berechnungen anführen:

1. Berechnete elektromotorische Kräfte an der Grenze von $\frac{n}{10}$ -HNO₃- und KCl-Lösung verschiedener Konzentration (Tower).

Konzentration der KCl-Lösung	EMK in Volt
$\frac{n}{1}$	0,0125
$\frac{n}{2}$	0,0169
$\frac{n}{4}$	0,0222
$\frac{n}{8}$	0,0282
$\frac{n}{16}$	0,0352
$\frac{n}{32}$	0,0430
$\frac{n}{64}$	0,0516
$\frac{n}{128}$	0,0607

2. Berechnete EMKe an der Grenze von $\frac{n}{10}$ -Zn(NO₃)₂ und KCl-Lösungen verschiedener Verdünnung (Tower).

¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 20, 1896.

Konzentration der KCl-Lösung	EMK in Volt
$\frac{n}{1}$	0,0002
$\frac{n}{2}$	0,0012
$\frac{n}{4}$	0,0028
$\frac{n}{8}$	0,0045
$\frac{n}{16}$	0,0071
$\frac{n}{32}$	0,0105
$\frac{n}{64}$	0,0150

Das Diffusionspotential irgendeines Elektrolyten ist also an der Grenze einer konzentrierteren Salzlösung von anderem Werte als an der Grenze einer dünneren Lösung desselben Salzes — auch dann, wenn dieses Salz derartig gleiche Kation- und Anionwanderungsgeschwindigkeiten besitzt, wie das KCl. Die Unterschiede sind bei den verschiedenen Elektrolyten variabel, bei $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ z. B. sind sie viel kleiner als bei HNO_3 .

Es ist leicht zu erkennen, daß die Kette



von demselben Typus ist; die Potentialdifferenzen an den Grenzen (1) und (2) sind entgegengesetzt und von verschiedener Größe, da die CuSO_4 -Lösung bei (1) mit einer im Verhältnis zum Wasser (bei 2) sehr konzentrierten Elektrolytlösung in Berührung steht; dasselbe gilt für die Potentialdifferenzen bei (3) und (4). Aus einer derartigen Zusammensetzung der Kette wird die Änderung der elektromotorischen Kraft mit der Konzentration der KCl-Lösung (oder einer anderen Salzlösung) an den beiden Seiten oder in der Mitte sofort verständlich.

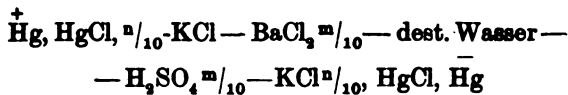
Nun fand ich, daß, wenn an Stelle des dest. Wassers eine Kupferferrocyanmembran gesetzt wird, dasselbe Potential entsteht; wir können demnach mit vollem Recht annehmen, daß das Potential der Niederschlagsmembran vom gleichen Typus ist.

Darin, daß das Kupferferrocyan-Gel (und überhaupt die semipermeablen Kolloidmembranen) in diesen Ketten sich in derselben Weise verhält wie das dest. Wasser, werden wir nichts besonderes finden, wenn wir bedenken, daß diese Membranen — nachdem sie für die Salze impermeabel sind — Elektrolyte gar nicht oder bloß in Spuren enthalten. Die Angabe von Berkeley und Hartley¹⁾, daß der spez. Widerstand der

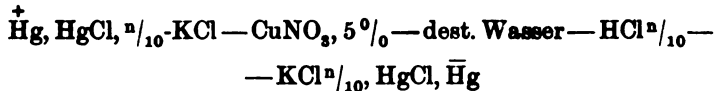
¹⁾ Phil. Transact. Roy. Soc. 206, 1906.

Kupferferrocyan-Gel 300000 Ohmcm ist, ist ein direkter Beweis hierfür. Die elektromotorischen Kräfte des Kupferferrocyan-Gels könnte man auf dieser Basis aus der Planckschen Formel auch berechnen; man müßte die einzelnen Diffusionspotentiale bei $n\text{-KCl}|\text{CuSO}_4$, dann bei $\text{CuSO}_4|\text{dest. Wasser}$, $\text{dest. Wasser}|\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (wo das dest. Wasser als Lösung der Ione H und OH mit der Konzentration $C = 1 \times 10^{-7}$ stehen würde), $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6|n\text{-KCl}$ und deren Summe berechnen. Diese Berechnung ist wegen der verschiedenen chemischen Valenz der fraglichen Ionen und der Unkenntnis ihres Dissoziationsgrades schwer durchzuführen.

Zur Zusammensetzung derartiger Ketten sind alle Salzlösungen geeignet; größere elektromotorische Kräfte erlangen wir natürlich nur dann, wenn die Geschwindigkeiten der Kationen und Anionen genügend differieren und insbesondere, wenn wir die Elektrolyte derart wählen, daß auf der einen Seite die Geschwindigkeit des Anions, auf der anderen Seite die Geschwindigkeit des Kations größer ist. So beträgt die elektromotorische Kraft der folgenden Kette:



0,130 Volt; jene der folgenden:



0,110 Volt, während bei Auslassen des dest. Wassers, so zwar, daß die Lösungen in unmittelbare Berührung kommen, die elektromotorische Kraft bei

1. $+ 0,004 \text{ V}$,
2. $- 0,025 \text{ V}$ ist.

Das Diffusionspotential verschiedene Elektrolyte enthaltender Lösungen ist also dann am größten, wenn sich zwischen denselben dest. Wasser (oder sehr verdünnte Elektrolytlösung) befindet.

4.

Auf Grund der Planckschen Theorie der diffusions elektromotorischen Kräfte kann auch die Eigenschaft dieser Ketten,

daß ihre elektromotorische Kraft von der Konzentration der diffundierenden Elektrolyte innerhalb weiter Grenzen (n bis $\frac{n}{100}$) mehr oder weniger unabhängig ist, abgeleitet werden. Zu diesem Zwecke wollen wir z. B. die diffusionselektromotorische Kraft der folgenden Kette prüfen:



bzw. deren Abhängigkeit von der Konzentration CuSO_4 und $\text{K}_4\text{Fe(CN)}_6$. Die an der Grenze 1 und 4 auftretende elektromotorische Kraft ist verhältnismäßig sehr klein und ihre Veränderung kann daher vernachlässigt werden.

Die an der Grenze 2 auftretende EMK ist nach der Planckschen Formel $\pi_2 - \pi_1 = RT \ln \xi$ zu berechnen, wo ξ aus der Gleichung

$$\frac{\xi u_2 c_2 - u_1 c_1}{v_2 c_2 - \xi v_1 c_1} = \frac{\ln \frac{c_2}{c_1} - \ln \xi}{\ln \frac{c_2}{c_1} + \ln \xi} \cdot \frac{\xi c_2 - c_1}{c_2 - \xi c_1}$$

zu bewerten ist, worin c_2 die Konzentration des Cuprisulfats, u_2 und v_2 die Wanderungsgeschwindigkeit des Cupri- und der Sulfatione, c_1 die Summe der Elektrolytkonzentrationen des dest. Wassers, u_1 und v_1 die Summe von deren Kation- bzw. Anionengeschwindigkeiten bedeutet. Dividieren wir die linke und rechte Seite durch c_1 und setzen wir $\frac{c_2}{c_1} = k$, so ist

$$\frac{\xi u_2 k - u_1}{v_2 k - \xi v_1} = \frac{\ln k - \ln \xi}{\ln k + \ln \xi} \cdot \frac{\xi k - 1}{k - \xi}$$

Es ist klar, daß, wenn $k = \text{konstant}$ ist, ξ ebenfalls konstant ist, denn alle übrigen Werte der Gleichung sind konstante Zahlen. Der Wert von ξ und von $\pi_2 - \pi_1$ ist also von der absoluten Konzentration der Elektrolyte des Cuprisulfats und des Wassers unabhängig, wenn nur deren Verhältnis konstant ist. Der Wert des ξ ist aber auch von der absoluten Konzentration des Cuprisulfats (zwischen bestimmten Grenzen) unabhängig in dem Falle, wenn c_2 verhältnismäßig sehr groß ist, d. h. wenn c_1 (wie beim dest. Wasser) sehr klein ist. In diesem Falle kann nämlich auf der linken Seite der Gleichung u_1 und ξv_1 vernachlässigt werden und damit wird der Wert

dieses Gliedes von k unabhängig. Auf der rechten Seite der Gleichung erfährt $\frac{\ln k - \ln \xi}{\ln k + \ln \xi}$ kaum eine Änderung durch Änderung des k ; das andere Glied kann, falls k groß ist, zu $\frac{\xi k}{k}$ vereinfacht werden, welches von k wieder unabhängig ist. Diese Erwägung gilt auch für das Diffusionspotential zwischen dest. Wasser-Ferrocyankalium und zwischen CuSO_4 und dest. Wasser, als auch für die Summe beider Potentialdifferenzen.

Demnach ist das Diffusionspotential irgendeines Elektrolyts gegenüber dem destillierten Wasser in gewissen Grenzen unabhängig von der Konzentration des betreffenden Elektrolyts.

Das System Ferrocyan kupfer-Gel gehört eigentlich zu den Systemen, die aus einem unlöslichen Salze und Lösung eines Salzes mit einem gleichen Ion bestehen; die EMK solcher Ketten hat Haber¹⁾ als einen Fall der Phasengrenzkraftpotentiale behandelt und auch experimentell untersucht. Ein solches System ist z. B. das folgende:

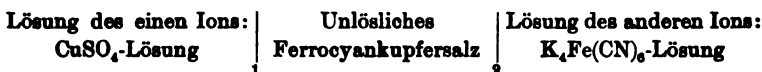


und

$$\pi = \frac{RT}{F} \ln \frac{C_{\text{Ag}^+_{\text{fest}}}}{C_{\text{Ag}^+_{\text{Lös.}}}} + \text{konst.}$$

Es wurde bestätigt, daß π sich wie die EMK von einer metallischen Ag^+ -Elektrode ändert, wenn die Ag^+ -Konzentration verändert wurde.

Nun ist das Ferrocyan kupfersystem scheinbar ein System mit der folgenden Zusammensetzung:



Die EMK würde dann

$$\pi + \pi_2 = RT \ln \frac{C_{\text{Cu}^+_{\text{fest}}}}{C_{\text{Cu}^+_{\text{Lös.}}}} + RT \ln \frac{C_{\text{FeCy}_6_{\text{fest}}}}{C_{\text{FeCy}_6_{\text{Lös.}}}}$$

und daher mit der Konzentration der gelösten Cu^+ - und FeCy_6^- -Ionen veränderlich sein.

Die Ursache, warum das — wie wir fanden — nicht der Fall ist, dürfte durch den Umstand bedingt sein, daß in diesen Ketten die Schicht des festen Salzes in wasserdurchlässiger Form, und nicht in wasserundurchlässiger Form vorhanden ist, was aber als eine Bedingung des Erscheinens von diesem Phasengrenzkraftpotential erachtet werden muß. Wird diese Bedingung nicht erfüllt, so treten an der Berührungsstelle nur die vom Beweglichkeitsunterschiede der Ionen (im Wasser) herrührenden diffusionsmotorischen Kräfte auf.

¹⁾ Annal. d. Physik [4], 26, 947, 1908. Über feste Elektrolyte, ihre Zersetzung durch den Strom und ihr elektromotorisches Verhalten in galvanischen Ketten.

5.

Den oben beschriebenen ähnlichen Messungen habe ich mit einer anderen semipermeablen Membran, der Gerbsäure-Gelatine-Membran, vorgenommen. Die Durchlässigkeit derselben hat ebenfalls Walden¹⁾ eingehend geprüft und konstatiert, daß die Membran für die meisten Elektrolyte permeabel ist; bloß manche Salze des Zn und Cd zeigten sich als ganz impermeabel. Demzufolge war auf Grund der Voraussetzung von Ostwald zu erwarten, daß die Anwesenheit eines derartigen Salzes auf der einen Seite der Membran infolge der großen Differenz der Wanderungsgeschwindigkeiten seiner Ione (in der Membran) eine große elektromotorische Kraft ergeben wird.

Die Membran habe ich in derselben Weise wie die Kupferferrocyan-Membran hergestellt. In einem kleinen Becherglase befand sich eine 5%ige Gerbsäurelösung, in einem anderen eine 5%ige β -Gelatinelösung. Die β -Gelatine (gelatinisiert nicht) habe ich entweder so hergestellt, daß ich die Gelatinelösung (die ein wenig sauer war) einige Stunden hindurch kochte, oder derart, daß ich sie $\frac{1}{2}$ Stunde lang mit Trypsin digerierte und dann durch Kochen inaktivierte. Die so gewonnenen Gelatinelösungen gelatinierten beim Auskühlen nicht. Die zwei Lösungen verband ich mittels einer feinen Capillare, durch die von der höher stehenden Lösung 1 bis 2 Tropfen langsam in die andere flossen; der Tropfen überzog sich sogleich mit einer Gerbsäure-Gelatine-Membran. Als ich zwei $\frac{2}{10}$ -KCl-Kalomelektroden in die beiden Lösungen tauchte, erhielt ich einen Strom von 0,025 bis 0,030 V.; die Gelatinelösung war positiv. Dann habe ich entweder in der Gerbsäure oder in der Gelatine verschiedene Elektrolyte gelöst, mit einer neuen Capillare verbunden und wieder gemessen.

Die verschiedenen Elektrolyte haben auf die elektromotorische Kraft auf zweierlei Art gewirkt. Löste ich in Gerbsäure oder in Gelatine KCl, Na_2SO_4 , Na-Acetat ($\frac{2}{10}$), so verminderte sich die elektromotorische Kraft auf 0,010 bis 0,001 V. Das $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , AlCl_3 und CdJ_2 ($\frac{2}{10}$) in Gelatine gelöst, erhöhten die elektromotorische Kraft auf 0,045 bis 0,060 V.; in Gerbsäure gelöst, ändert sich die Richtung des Stromes, so

¹⁾ loc. cit.

daß jetzt die der Gerbsäure positiv wird und die elektromotorische Kraft 0,010 bis 0,025 V. beträgt.

Auch scheint es auf den ersten Blick, daß nur die impermeablen Salze EMK erzeugen. Doch erzeugen die untersuchten permeablen und impermeablen Salze, in Gerbsäure oder in Gelatine gelöst, dem destillierten Wasser gegenüber (also ohne jede Membran) elektromotorische Kräfte derselben Richtung und Größe. Es kann also die Bedeutung der Membran auch hier bloß in ihrer Elektrolytlosigkeit liegen und die entstehenden elektromotorischen Kräfte der Wanderungsgeschwindigkeits-Differenzen der Ione der Zn-, Ca-, Cd- und Al-Salze in Wasser berühren.

Zusammenfassung.

1. Die Ionenpermeabilität einer Membran bedeutet nicht einen erheblicheren Unterschied der Wanderungsgeschwindigkeiten der Ionen in der Membran.

2. Es wurde experimentell begründet, daß die EMK der Niederschlagsmembranen, in den üblichen Ketten untersucht, eine diffusionselektromotorische Kraft ist; die Membrane haben in den Ketten die Bedeutung eines elektrolytfreien wässerigen Mediums.

Zur Theorie der bioelektrischen Ströme.

Von

H. Rohonyi.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.
[Direktor: F. Tangl.])

(Eingegangen am 9. Juni 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

1.

Die von Bernstein ausgebaute Membrantheorie der bioelektrischen Ströme ging von der Annahme aus, daß zwischen den Wanderungsgeschwindigkeiten der in der Zellmembranphase diffundierenden Ionen eine beträchtliche Differenz besteht, infolgedessen an der Berührungsfläche der Zellmembran und der sie umspülenden Elektrolytlösung eine beträchtliche diffusions-elektromotorische Kraft auftritt. Der bioelektrische Strom entspringt dann einer diphasischen Kette mit großer diffusions-elektromotorischen Kraft. Auf Grund dieser Annahme gelang es ziemlich einfach, einige Eigenschaften der bioelektrischen Ströme zu erklären.

Es war aber immer eine Schwäche dieser Theorie, daß ihre Grundannahme sich nur auf unsichere indirekte Beweise stützen konnte. Sie erscheint auch kaum berechtigt, sobald die Erklärung der Ionenpermeabilität sowie des Potentials der Niederschlagsmembranen auf Grund anderer Annahmen möglich ist. Es haben auch tatsächlich Loeb und Beutner¹⁾, denen wir über das bioelektrische Potential grundlegende Arbeiten verdanken, in letzter Zeit eine neue Theorie der bioelektrischen Ströme entwickelt.

¹⁾ Diese Zeitschr. 41, 1, 1912; 47, 73, 1912; 51, 288 u. 300, 1913; 59, 195, 1918.

Der größte Teil ihrer Untersuchungen wurde an einem pflanzlichen Objekte, am Apfel, angestellt; die Prüfung der Kartoffelhaut und der menschlichen Haut hat dann im wesentlichen zu den gleichen Resultaten geführt. Sie haben die Änderung des „bioelektrischen Potentials“ mit der Qualität und Konzentration der die lebenden Membranen berührenden Elektrolytlösungen bestimmt.

Die Einrichtung war folgende:

Der Apfel oder die Tomate tauchte mit einem Ende in die Zuleitungsflüssigkeit *a*, die in einer Schale enthalten war. An dem anderen freien Ende wurde in den Apfel ein kleines Loch gebohrt, in welches einige Kubikzentimeter der Zuleitungsflüssigkeit *b* gebracht wurden, so daß die Kette folgende Anordnung hatte:

Flüssigkeit *a* | Apfel | Flüssigkeit *b*
intakt verletzt

Die Ableitung geschah mit Kalomelelektroden.

Wenn *a* und *b* $\frac{1}{10}$ -KCl-Lösung sind, so beträgt die elektromotorische Kraft des durch die mit $\frac{1}{10}$ -KCl gefüllten Kalomelelektroden abgeleiteten Stromes ca. 0,020 Volt, so daß die Verletzungsseite negativ ist. Dies ist der Verletzungsstrom des Apfels. Wenn auf der Seite *a* die $\frac{1}{10}$ -KCl-Lösung auf $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{250}$, $\frac{1}{1250}$ -KCl verdünnt wurde, so nahm die elektromotorische Kraft zu und wuchs auf 0,100 bis 0,140 Volt, stets derart, daß die Verletzungsseite negativ war. Dasselbe war der Fall, als an Stelle von KCl in *a* und *b* und in die Kalomelelektroden NaCl, CaCl₂, MgCl₂, BaCl₂, LiCl genommen wurden. Wenn der Apfel auf beiden Seiten unversehrt war und *a* und *b* Lösungen gleicher Konzentration enthielten, so war natürlich kein Strom vorhanden, wenn sie aber die eine Lösung verdünnten, so fanden sie wieder, bei Positivität der dünneren Lösung, elektromotorische Kräfte bis 0,115 Volt ($\frac{1}{10}$ -KCl bis $\frac{1}{3500}$ -KCl).

Verf. konnten weiterhin konstatieren, daß die Größe der Änderung der Potentialdifferenz mit der Änderung der Konzentration der Zuleitungsflüssigkeit in einem großen Bereich der Konzentration beinahe der Nernstschen Formel für Potentialdifferenzen entspricht. Ferner beobachteten sie, daß die bioelektrische Potentialdifferenz mit steigender Konzentra-

tion einem Grenzwerte zustrebt. Beutner hat dann diese Erscheinung damit erklärt, daß Spuren der Elektrolyte der Lösung mit einem Elektrolyten der wasserunlöslichen Membranphase chemische Reaktionen eingehen. Er hat nachweisen können, daß an der Grenze von wasserunlöslichen Säurelösungen (z. B. Salicylsäure in Salicylaldehyd gelöst) und wässrigen Lösungen Potentialdifferenzen auftreten, die eine ähnliche Abhängigkeit von der Konzentration zeigen, wie pflanzliche und tierische Organe. Um die Identität der physiologischen Ströme mit den Strömen solcher Ketten abzuleiten, hatte Beutner folgende Annahmen nötig: Die Membran besitzt einen Eigengehalt an Elektrolyten, d. h. enthält wasserunlösliches Salz in homogener Mischung. Die Alkalisalze besitzen in der Membran eine kleine, aber endliche Löslichkeit. Das wasserunlösliche Salz in der Membran (YX) reagiert mit dem in die Membran eingedrungenen Salz (KCl) etwa so, daß elektrolitisch dissoziiertes KX und undissoziiertes YCl entsteht. Dieser Umsatz geht vollständig vor sich, d. h. er ist von der Konzentration des Salzes in der wässrigen Lösung im wesentlichen unabhängig. Dieses wasserunlösliche Salz wäre die die lebende Zelle begrenzende Lecithin- oder irgendeine andere Phosphatidenschicht.

2.

Den Gang der Änderung der Potentialdifferenzen, den Beutner als charakteristisch für solche Systeme beschrieb, die aus einer wässrigen Elektrolytlösung und einer wasserunlöslichen Elektrolyte enthaltenden nichtflüssigen Phase bestehen, finden wir auch bei gewissen Ketten, die aus zwei wässrigen Phasen bestehen. Es sei die eine wässrige Elektrolytlösung eine verdünnte Lösung irgendeiner Säure, die andere eine wässrige Salzlösung (KCl). Die an der Berührungsfläche auftretende elektromotorische Kraft ändert sich innerhalb gewisser Grenzen mit der Konzentration der KCl-Lösung logarithmisch und nähert sich bei höheren Konzentrationen der KCl-Lösung einem Grenzwerte. Im folgenden beschreibe ich meine Versuche, in denen ich die elektromotorische Kraft solcher Ketten maß.

Die Zusammenstellung der Ketten zeigt das folgende Schema:

Hg, HgCl, $\frac{n}{10}$ -KCl	Lösung eines Elektrolyts von konstant. Kon- zentration	KCl-Lösung von variabler Kon- zentration	$\frac{n}{10}$ -KCl, HgCl, Hg
	I.	II.	

In I war die Konzentration konstant, in II änderte ich sie von $\frac{n}{1000}$ bis $\frac{n}{1}$. Die Lösungen I und II standen in kleinen Bechergläsern nebeneinander; während der Zeit der Messung brachte ich den Inhalt der Gläser durch einen Wollfaden in Verbindung und gleichzeitig schaltete ich sie mittels in die Lösungen eintauchender Ostwaldscher Kalomelelektroden in einen Galvanometerkreis. Die elektromotorische Kraft des Stromes maß ich nach der Kompensationsmethode. In einem Teil der Messungen berührten sich die Lösungen I und II durch die Zwischenschaltung einer Kollodiummembran. In I waren folgende Elektrolytlösungen: Salzsäure, Milchsäure, Kalilauge, Ferricyankalium, Cuprinitrat usw.

Der im Moment des Stromschlusses gemessene Wert der elektromotorischen Kraft war natürlich nicht konstant, sondern sank fortwährend, zuerst rasch, später langsamer. Die Ursache hiervon ist die gegenseitige Diffusion der sich berührenden Elektrolytlösungen, wodurch ihre ursprüngliche Konzentrationsdifferenz sich vermindert. Dieser Umstand war hauptsächlich in den Fällen störend, wo an der Stelle II stark verdünnte Lösungen standen; darum führte ich die Messung womöglich rasch aus und nahm den zuerst gemessenen maximalen Wert. Die Messung wiederholte ich dann mit einer neuen Lösung und nahm den Mittelwert mehrerer solcher Messungen; der Fehler der Messung war so nicht größer als $\pm 0,001$ Volt. Eine Messungsreihe habe ich folgendermaßen durchgeführt. Ich begann an der Stelle II mit einer $\frac{n}{1}$ -KCl-Lösung, und nachdem ich die gefundene elektromotorische Kraft notierte, setzte ich an Stelle der ersten Lösung eine $\frac{n}{2}$ -KCl-Lösung, dann $\frac{n}{4}$ usw., so daß ich die angewandten KCl-Lösungen meist auf das Doppelte verdünnte. In den folgenden Tabellen bezeichne ich mit π_4 die Differenz der in zwei nacheinander ausgeführten Messungen erhaltenen Werte, also die dem Werte $\frac{C_{II}}{C_{II}} = \frac{1}{2}$ entsprechende Differenz der elektromotorischen Kraft. Wenn die Lösung II positiv war, bezeichne ich die elektromotorische Kraft mit $+$, wenn sie negativ war, mit $-$.

1. 0,2%ige Milchsäure.
Lösung I und II mit Wollfaden
in Berührung gebracht.

Konzentration des KCl in Lösg. II	Elektro- motorische Kraft Volt	π_D
$n/1$	0,000	0,000
$n/10$	0,000	0,004
$n/20$	+ 0,004	0,003
$n/40$	+ 0,007	0,006
$n/80$	+ 0,013	0,007
$n/160$	+ 0,020	0,010
$n/320$	+ 0,030	0,010
$n/640$	+ 0,040	0,008
$n/1280$	+ 0,048	0,014
$n/2560$	+ 0,062	

3. $n/500$ -Salzsäure.
Lösung I in einer Kollodiummembran,
eintauchend in Lösung II.

Konzentration des KCl in Lösg. II	Elektro- motorische Kraft Volt	π_D
$n/1$	- 0,035	0,001
$n/2$	- 0,034	
$n/5$	- 0,032	0,004
$n/10$	- 0,028	
$n/50$	- 0,012	0,010
$n/100$	- 0,002	0,014
$n/200$	+ 0,012	0,010
$n/400$	+ 0,022	0,010
$n/800$	+ 0,032	

5. $m/10$ -Cuprinitrat.
Mit oder ohne Kollodiummembran.

Konzentration des KCl in Lösg. II	Elektro- motorische Kraft Volt	π_D
$n/1$	+ 0,006	0,000
$n/2$	+ 0,006	
$n/5$	+ 0,003	0,003
$n/10$	0,000	0,004
$n/20$	- 0,004	
$n/50$	- 0,010	0,003
$n/100$	- 0,013	0,004
$n/200$	- 0,017	0,003
$n/500$	- 0,020	

2. 0,2%ige Milchsäure.
Lösung I in einer Kollodiummembran,
eintauchend in Lösung II.

Konzentration des KCl in Lösg. II	Elektro- motorische Kraft Volt	π_D
$n/1$	- 0,016	0,000
$n/2$	- 0,016	
$n/10$	- 0,007	0,005
$n/20$	- 0,002	0,005
$n/50$	+ 0,005	0,005
$n/100$	+ 0,010	0,007
$n/200$	+ 0,017	0,015
$n/400$	+ 0,032	0,014
$n/800$	+ 0,046	

4. $m/10$ -Ferrocyankalium.
Mit oder ohne Kollodiummembran.

Konzentration des KCl in Lösg. II	Elektro- motorische Kraft Volt	π_D
$n/1$	- 0,020	0,007
$n/2$	- 0,013	0,006
$n/4$	- 0,007	
$n/10$	0,000	0,007
$n/20$	+ 0,007	0,008
$n/40$	+ 0,015	0,008
$n/80$	+ 0,023	0,004
$n/160$	+ 0,027	0,007
$n/320$	+ 0,034	0,004
$n/640$	+ 0,038	0,005
$n/1280$	+ 0,043	

6. $n/100$ -Kalilauge.
Lösung I in einer Kollodiummembran,
eintauchend in Lösung II.

Konzentration des KCl in Lösg. II	Elektro- motorische Kraft Volt	π_D
$n/1$	- 0,010	0,002
$n/2$	- 0,012	0,000
$n/4$	- 0,012	
$n/10$	- 0,012	
$n/25$	- 0,006	0,004
$n/50$	- 0,002	0,004
$n/100$	+ 0,006	0,010
$n/200$	+ 0,016	0,011
$n/400$	+ 0,027	0,016
$n/800$	+ 0,043	0,014
$n/1600$	+ 0,057	

Nachstehende Figur zeigt diese Daten graphisch. Auf der Ordinate sind die elektromotorischen Kräfte aufgetragen (positiv, wenn die Lösung II positiv war), auf der Abszisse die

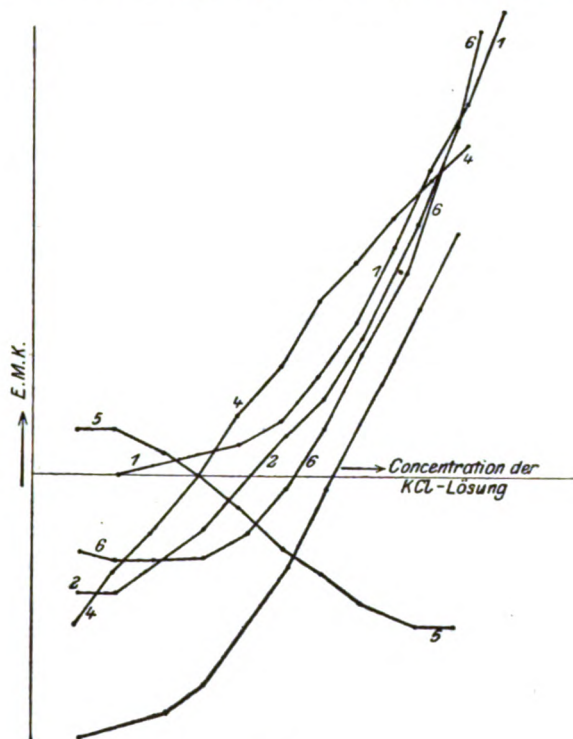


Fig. 1.

KCl-Konzentrationen der Lösung II. Um beurteilen zu können, ob II sich proportional mit $\log \frac{C_{II}}{C'_{II}}$ verhält, schien eine solche Darstellungsweise geeignet, bei der die Einheit der Abszisse $\frac{C_{II}}{C'_{II}} = \text{konst} = \frac{1}{2}$ ist.

Die zweite Kolumne der Tabellen lehrt, daß die elektromotorische Kraft der verschiedenen Elektrolytlösungen I gegen die KCl-Lösungen mit identischer Konzentration verschieden ist; dies war auch zu erwarten, da die verschiedenen Elektrolyte I Ionen mit verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit enthalten. Weiterhin zeigt sich, daß derselbe Elektrolyt I in Be-

rührung mit einer KCl-Lösung von bestimmter Konzentration in einigen Fällen dieselbe elektromotorische Kraft gibt, wenn zwischen die Lösungen einmal eine Kollodiummembran, das andere Mal ein Wollfaden eingeschaltet ist. In anderen Fällen zeigt sich eine wesentliche Differenz zwischen der mit oder ohne Membran gemessenen EMK. Diese Differenz ist mit Kalilauge am größten, wo bei Anwendung einer Kollodiummembran gegen eine $\frac{n}{1600}$ -KCl-Lösung ein Strom von $+0,057$ Volt Spannung auftritt (s. Tabelle 6), wogegen bei unmittelbarer Schaltung mittels eines Wollfadens ein entgegengesetzt gerichteter Strom von einigen Millivolt Spannung zu messen ist, die auch mit der Änderung der Konzentration der KCl-Lösung sich nur wenig ändert.

Die Wirkung, die die Membran auf die Größe der EMK solcher Ketten hat, kann uns an dieser Stelle nicht interessieren; offenbar spielen hier Adsorptions- oder capillarelektische Einflüsse eine große Rolle. Uns interessiert hier nur die Änderung der EMK mit der Konzentration der KCl-Lösung; diese war aber in jedem Falle dieselbe, einerlei, ob eine Membran oder ein Wollfaden die Lösungen I und II miteinander verband.

Größe und Gang dieser Änderungen sind in der dritten Kolumne der Tabellen aufgetragen (π_D). Wir sehen, daß die der doppelten Verdünnung der KCl-Lösung entsprechende Änderung im Gebiete der kleinen Konzentrationen groß und konstant ist; je mehr wir aber die KCl-Lösung konzentrieren, desto kleiner wird die entsprechende Änderung: die EMK nähert sich einem Grenzwerte. Dieser Gang der Änderung ist an den Kurven 1, 2, 3, 5 und 6 gut zu beobachten; der Gang der Kurve 4 scheint hingegen bis zum Ende gleichförmig zu sein.

Wenn zwischen den Wanderungsgeschwindigkeiten der Ionen in II eine große Differenz besteht, so bedingt eine gewisse Konzentrationsänderung des in II gelösten Salzes (z. B. die doppelte Verdünnung) eine größere Änderung der EMK (so im Falle, wo Salzsäure oder Milchsäure angewendet wurde). Wenn die Differenz der Wanderungsgeschwindigkeiten der Ionen in I klein ist, ist auch die Änderung der EMK, die derselben Verdünnung entspricht, kleiner (Kurve 4); wenn die Ionen-Wanderungsgeschwindigkeiten in I nur unbedeutend voneinander differieren (z. B. wenn in I NaCl gelöst ist), so ändert sich die EMK mit der Konzentrationsänderung der KCl-Lösung nicht merklich.

Die Änderungen der EMK sind auch in dem Versuch mit $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ gering, trotzdem die $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung hydrolytisch abgespaltene Salpetersäure enthält. Bei Anwendung einer salzfreien Salpetersäurelösung sind die Änderungen der EMK so groß wie in den Versuchen 1 bis 3. Die in der $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung enthaltenen Cu^{++} - und NO_3^- -Ionen vermindern aber das Diffusionspotential der Salpetersäure und auch dessen Änderungen. Wenn wir von dem Versuch 4 (dessen Sonderstellung wegen der Komplexität der Ferrocyanalkium-Ionen schwer zu erklären ist) absehen, so können wir sagen, daß für die EMK einer jeden analog zusammengesetzten Diffusionskette der Gang der Änderung charakteristisch ist, den Beutner und Loeb für die bioelektrischen Ströme charakteristisch gefunden haben. Diese Eigenschaft dieser Ketten kann zwar wegen der Transzendentalität der Planckschen Formel, die sich auf die Diffusions-EMK verschiedener Elektrolytlösungen bezieht, nicht allgemein abgeleitet werden, doch zeigen Towers Daten, die für einige ähnliche Fälle aus der Planckschen Formel ausgewertet wurden, deutlich, daß diese Eigentümlichkeit in der Planckschen Formel enthalten ist.

Der Zusammenhang des bioelektrischen Potentials mit der Salzkonzentration im Gebiete der kleinsten Konzentrationen ist also nicht nur auf die Phasengrenzkraft des Systems vom Typus $\text{Ag}_{\text{sol.}}^+ | \text{Ag-Salz}_{\text{test}}$ charakteristisch; ebenso ist die Abhängigkeit der EMK von der Salzkonzentration in höchstem Konzentrationsgebiete nicht nur auf die Phasengrenzkraft des Nernst-Riesefeldschen Typus: [wässrige Lösung eines Elektrolyts von der Konzentration C_1 | Benzol | wässrige Lösung desselben Elektrolyts von der Konzentration C_2] charakteristisch: denn alle diese Änderungen sind auf die Diffusions-EMK von zwei wässrige Lösungen enthaltenden Ketten gleich charakteristisch¹⁾.

¹⁾ Loeb und Beutner haben die Änderung der an physiologischen Objekten gefundenen EMK mit der Salzkonzentration auch an Ketten erhalten, die aus einer wässrigen Salzlösung und einer Lösung von Lecithin und Guajacol bestanden. Zur Erklärung wurde eine spezielle chemische Reaktion zwischen dem wasserunlöslichen (?) Lecithin und dem Salz angenommen. Richtiger dürfte folgende Erklärung sein: Die wässrige und die Guajacolphase wurden in den Experimenten nicht in Verteilungsgleichgewicht gebracht; die Kette bestand also aus einer Salzlösung von variabler Konzentration und aus einer salzfreien, sauren

3.

Das Diffusionspotential einer wässrigen oder nichtwässrigen Elektrolytlösung in Berührung mit einer wässrigen Salzlösung ist also um so größer, je verdünnter die Salzlösung ist; wird die Salzlösung konzentrierter, so nimmt das Potential fortwährend ab und nähert sich einem Grenzwerte zu.

Wenn wir uns diese Tatsache vor Augen halten, so können wir uns die Änderung des bioelektrischen Potentials mit der Salzkonzentration in den Experimenten von Loeb und Beutner sehr einfach erklären, ohne daß wir zu ihren Hypothesen greifen müßten. Wir sind nicht gezwungen, die Plasmahaut als eine Lipoidphase zu betrachten und das Vorhandensein eines wasserunlöslichen Lipoids in dieser Phase anzunehmen, ferner die Hypothese einer speziell bedingten chemischen Reaktion zwischen diesem wasserunlöslichen Elektrolyt und den Ionen der angrenzenden Salzlösung aufzustellen. Wir kommen vollständig mit der Annahme aus, daß die Plasmahaut in Spuren einen Elektrolyt von Säurenatur gelöst oder adsorbiert enthält, sonstige Ionen (Salze) aber nicht und auch solche aus einer angrenzenden Salzlösung nicht aufnimmt. Diese beiden Annahmen sind auch in den Annahmen der Beutnerschen Theorie enthalten, und eben diese sind es, die gegenüber den anderen Annahmen dieser Theorie als begründet angesehen werden können.

Die wichtigste Beschaffenheit der Plasmahaut in dieser von mir entworfenen Theorie des bioelektrischen Potentials ist ihre Elektrolytfreiheit. Sobald die Plasmahaut Ionen in beträchtlicher Menge enthält oder von der angrenzenden Salzlösung aufnimmt, muß das bioelektrische Potential abnehmen. Das Verschwinden des Verletzungsstromes nach dem Tode der

(Lecithin enthaltenden) Guajacollösung von konstanter Zusammensetzung. Der Unterschied zwischen dieser und einer aus wässriger Salzlösung und salzfreier, wässriger Säurelösung bestehenden Kette besteht darin, daß die erste eine diphasische, letztere eine monophasische ist. Die EMK dieser zwei Ketten mag trotz des gleichen Gehaltes an Elektrolyten verschieden sein; die Änderung des Diffusionspotentials des Lecithins mit der Salzkonzentration muß aber in beiden Fällen der Größe und Richtung nach im wesentlichen dieselbe sein. Die phasischen Ketten sind, insofern sie nicht im Verteilungsgleichgewicht sind, zugleich Diffusionsketten, und ist der für die letzteren charakteristische Konzentrationseinfluß auch für sie gültig.

Gewebe ist dann darauf zurückzuführen, daß die abgestorbene Plasmahaut Salzionen aufnimmt, worauf auch die Verminderung ihres elektrischen Widerstandes deutet. Der negativierende Einfluß von Kaliumsalzen gegenüber Natriumsalzen mag seine Ursache darin finden, daß Kaliumsalze in der Plasmahaut besser löslich sind, eine Erklärung, worauf zuerst Loeb und Beutner hinwiesen. Wahrscheinlich ist auch der Aktionsstrom das Ergebnis einer Permeabilitätsänderung der Plasmahaut; natürlich nicht in dem Sinne, daß die Änderung die Ionen-Wanderungsgeschwindigkeiten trifft, sondern vielmehr ist das Aufnahmevermögen der Plasmahaut der tätigen Zelle für Elektrolyte größer, derart, daß die Konzentration der Elektrolyte und infolgedessen das bioelektrische Potential hier ein anderes ist, als in der Plasmahaut der ruhenden Zelle.

Zusammenfassung.

1. Die Änderung des sog. bioelektrischen Potentials mit der Salzkonzentration, die Loeb und Beutner für charakteristisch halten, ist eine Eigenschaft jeder Kette, bestehend aus einer wässerigen Salzlösung und einer salzfreien, wässerigen oder nichtwässerigen Elektrolytlösung.

2. Es sind somit zur Erklärung dieser Eigenschaft des bioelektrischen Potentials die Annahmen von Loeb und Beutner, betreffend die Lipoidnatur der Plasmahaut usw., nicht nötig. Es genügt die Annahme, daß die Plasmahaut keine oder nur geringe Mengen von Salzionen, aber Elektrolyte von Säurenatur in Spuren adsorbiert enthält.

Adsorption, Quellung und osmotischer Druck von Kolloiden.

Von
M. Polányi.

(Aus dem Institut für physiologische Chemie der Universität Budapest.
[Direktor: F. Tangl.])

(Eingegangen am 13. Mai 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

I. Quellungsbeeinflussung und Adsorption.

Obzwar das Verhältnis von Quellungsbeeinflussung und Adsorption systematisch noch wenig behandelt wurde, hat sich doch, auf Grund der Erfahrung, die Meinung gebildet, daß zwischen diesen Größen ein Zusammenhang besteht. Namentlich findet man mehrfach die Vermutung geäußert, daß aus Lösungen, in denen ein Gel stärker quillt als in Wasser, der gelöste Stoff durch das Gel positiv adsorbiert wird¹⁾, wogegen sich in Lösungen, die die Quellung hindern, negative Adsorption der gelösten Stoffe zeigen muß²⁾.

Die vielfachen Ausnahmen, die sich von dieser Regel zeigen, schwächten sie jedoch; einige Tatsachen, auf die sie sich stützt, berühre ich weiter unten, wo ich sowohl diese Regel selbst wie auch die Ausnahmen deuten werde.

Den exakten Zusammenhang zwischen Quellungsbeeinflussung und Adsorption werde ich auf Grund des 2. Haupt-

¹⁾ Unter positiver Adsorption versteht man hier, daß im Falle, daß man der Lösung die trockene Gelsubstanz zusetzt und diese durch Quellung einen Teil der Lösung in sich aufnimmt, der übrigbleibende Teil der Lösung verdünnter ist, als es die ursprüngliche Lösung war; im Gegensatz hierzu bezeichnet man es als negative Adsorption, wenn die überstehende Lösung sich konzentrierter zeigt, als es die Lösung ursprünglich war.

²⁾ Siehe z. B. Dumanski, Zeitschr. f. phys. Chem. 60, 553, 1907.

satzes aufzuklären versuchen. Einen Hinweis auf diese Ableitung sehe ich schon in einem Gedankengang enthalten, dem man in der Kolloidchemie mehrfach begegnet. Dieser weist darauf hin, daß, wenn ein Gel einen gelösten Stoff negativ adsorbiert, er durch Konzentrierung der Lösung während der Quellung sozusagen Arbeit leistet und daß dies ein Grund dafür sei, daß die Quellung in Anwesenheit eines negativ adsorbierten Stoffes gehindert wird¹⁾. Dieser Gedankengang ist trotz seiner Unsicherheit und Unvollkommenheit von der exakten Behandlung der Frage nicht ganz entfernt. Wir wollen nun zu dieser exakten Behandlung übergehen.

Denken wir uns ein zylindrisches Gefäß, das durch zwei Kolben in drei Abteilungen getrennt wird (s. Fig. 1). Kolben I läßt das Lösungsmittel *A* durch, hält hingegen den gelösten Stoff *B* zurück. Der Kolben II ist durch Löcher von mikroskopischer Größe durchsetzt, die sowohl *A* wie *B* durchlassen, doch das Gel zurückhalten. Das ganze System wird nun folgendermaßen gefüllt.

1. Das Gefäß wird mit dem Lösungsmittel *A* gefüllt, so daß darin beide Kolbenscheiben eintauchen.

2. Es wird in den Raum, der unterhalb des Kolbens I liegt, eine gewisse Menge des gelösten Stoffes eingeführt. Dieser füllt durch Diffusion den ganzen Raum bis zum Kolben I, da er diesen aber nicht durchdringen kann, so übt er einen osmotischen Druck auf ihn aus; damit dieser Kolben an seinem Platze bleibt, legen wir jetzt ein Gewicht auf ihn, das gerade schwer genug ist, um dem entstandenen osmotischen Druck das Gleichgewicht zu halten.

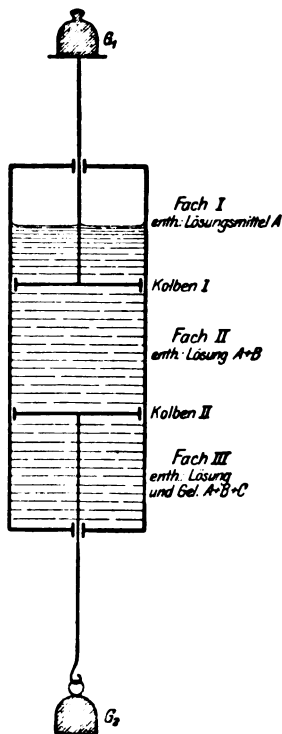


Fig. 1.

¹⁾ Ähnliches findet sich z. B. bei Dumaneki, l. c., ausgedrückt.

3. In den Raum unter dem Kolben II bringen wir ein Stück trockene Gelsubstanz *C*. Dieses quillt dort auf und erreicht alsbald (bei entsprechender Größe des unteren Raumes) den unteren Kolben, durch den es aber in der weiteren Quellung gehindert wird und auf den es daher einen Druck, den Quellungsdruk, ausüben wird. Diesem Druck halten wir wieder durch ein entsprechendes Gewicht G_2 das Gleichgewicht, so daß auch Kolben II an seinem Platze bleibt. Falls der osmotische Druck, der auf den oberen Kolben ausgeübt wird, während der letzten Prozedur (durch Adsorption von seiten des Gels) sich ändern sollte, so muß das Gewicht, das auf diesem Kolben ruht, entsprechenderweise geändert werden.

Es ist nun wohl zu beachten, daß, wenn jetzt einer der beiden Kolben in Bewegung gesetzt wird, auch der andere Kolben in Bewegung tritt. Wird z. B. der obere Kolben nach unten verschoben, so wird die Lösung konzentrierter. Diese Konzentrierung setzt sich über den unteren Kolben auf die im Gel befindliche Lösung fort und läßt auch den Quellungsdruk des Gels nicht unbeeinflusst, und zwar wird die Konzentrierung eines Stoffes, der die Quellung fördert, den Quellungsdruk erhöhen, ein quellungshindernder Stoff wird ihn vermindern. Ebenso wird das Verschieben des unteren Kolbens den Druck beeinflussen, der auf dem oberen Kolben lastet, denn die Lösung, die man mit Hilfe des unteren Kolbens aus dem Gel auspressen kann, ist nicht identisch mit der Lösung, die sich im Fache II befindet, sie kann verdünnter oder konzentrierter sein als diese. Diese beiden Möglichkeiten will ich gleich durch eine entsprechende Ausdrucksweise charakterisieren: wenn die Lösung, die man aus dem Gel pressen kann, konzentrierter ist, als die im II. Fache befindliche, so will ich das eine positive Konzentrierungsfähigkeit des Gels nennen, wenn sie verdünnter ist, spreche ich von einer negativen Konzentrierungsfähigkeit.

Hat man sich die Verhältnisse so festgelegt, so läßt sich mit Hilfe der beiden Kolben folgender isothermer Kreisprozeß in 4 verschiedenen Phasen ausführen.

1. Der obere Kolben wird hinunter geschoben.
2. Der untere Kolben wird hinunter geschoben.
3. Der obere Kolben wird an seinen ursprünglichen Platz gebracht.

4. Der untere Kolben wird an seinen ursprünglichen Platz gebracht.

Falls man die Verschiebungen des Kolbens umkehrbar leiten kann, so können wir nach dem 2. Hauptsatze diesen Kreisprozeß ohne Arbeit verrichten. Setzen wir vorläufig voraus, daß die umkehrbaren Verschiebungen möglich sind, und lassen wir die Diskussion dieser Annahme auf später. Dann folgt also, daß die Summe der vier Arbeitsgrößen, die den vier Verschiebungen entsprechen, gleich Null ist.

Die Glieder dieser Arbeitssumme sind:

1. Beim Hinunterschieben des Kolbens I wird die Arbeit von außen (positiv) geleistet:

$$dA_1 = p_\varphi dv,$$

wo p_φ den osmotischen Druck des Stoffes A bezeichnet, wenn das Volumen des Gels gleich φ ist und dv die Volumenverminderung des Faches II ist.

2. Beim Hinunterschieben des unteren Kolbens leisten wir abermals positive Arbeit:

$$dA_2 = \pi_{v-dv} \cdot d\varphi,$$

wo π_{v-dv} der Quellungsdruck des Gels ist, für den Fall, daß das Volumen des Faches II $v - dv$ ist und $d\varphi$ die Volumenverminderung des Faches III bedeutet.

3. Beim Zurückschieben des Kolbens I leistet das System selbst Arbeit; das Vorzeichen desselben ist daher negativ:

$$dA_3 = -p_{\varphi-d\varphi} \cdot dv,$$

wo $p_{\varphi-d\varphi}$ der osmotische Druck der Lösung ist, wenn das Volumen des Gels $\varphi - d\varphi$ ist.

4. Auch beim Zurückschieben des Kolbens II leistet das System die Arbeit:

$$dA_4 = -\pi_v \cdot d\varphi,$$

wo π_v der Quellungsdruck des Gels ist, wenn das Volumen der Lösung v ist.

Die Summe der Arbeit, die der ganze Kreisprozeß leistet: ist also:

$$\begin{aligned} dA_1 + dA_2 + dA_3 + dA_4 = \\ = p_\varphi dv + \pi_{v-dv} \cdot d\varphi - p_{\varphi-d\varphi} \cdot dv - \pi_v d\varphi = 0, \end{aligned}$$

oder umgeformt

$$(p_{\varphi} - p_{\varphi - d\varphi}) dv = (\pi_v - \pi_{v - dv}) d\varphi.$$

$p_{\varphi} - p_{\varphi - d\varphi}$ ist die Veränderung des osmotischen Druckes bei Veränderung des Volumens des Gels um $d\varphi$

$$p_{\varphi} - p_{\varphi - d\varphi} = \frac{\partial p}{\partial \varphi} \cdot d\varphi.$$

Ähnlicherweise ist $\pi_v - \pi_{v - dv}$ die Veränderung des Quellungsdruckes, die durch eine Veränderung des Volumens der Lösung um dv bewirkt wird,

$$\pi_v - \pi_{v - dv} = \frac{\partial \pi}{\partial v} \cdot dv.$$

Es ist also die Gleichung (1) in die Form zu schreiben:

$$\frac{\partial p}{\partial \varphi} \cdot d\varphi \cdot dv = \frac{\partial \pi}{\partial v} dv d\varphi$$

und vereinfacht:

$$\frac{\partial \pi}{\partial v} = \frac{\partial p}{\partial \varphi} \cdot \dots \dots \dots (2)$$

Diese Formel ist das Endergebnis unserer thermodynamischen Überlegungen. Es kann aus ihr herausgelesen werden, daß eine Erhöhung der Konzentration des gelösten Stoffes den Quellungsdruck in dem Maße erhöht, als der Stoff durch das Gel positiv konzentriert wird, und daß er im Gegenteil den Quellungsdruck herabsetzen wird, wenn er im Gel negativ konzentriert wird.

Einer weiteren Diskussion soll eine Umformung meiner Formel vorausgeschickt werden: diese Umformung ist jener analog, die die Gibbsche Adsorptionsformel auf ihre gewöhnlich gebräuchliche Form bringt. Wir führen zwei neue Variablen ein. 1. Die Konzentration der Lösung, die mit dem Gel in Berührung steht. 2. Die in das Gel konzentrierte Menge. Dieser letztere Begriff soll folgendermaßen definiert werden. Ist c_G die Konzentration jener Lösung, die man durch eine unendlich kleine Kompression des Gels mittels einer porösen Scheibe aus demselben abpressen kann, und c_L die Konzentration der Lösung, die mit dem Gel im Gleichgewicht steht, so ist $u = c_G - c_L$ die in das Gel konzentrierte Menge des gelösten Stoffes. Vor allem führen wir die Konzentration als Variable ein.

$$\frac{\partial p}{\partial c} \cdot \frac{\partial c}{\partial \varphi} = \frac{\partial \pi}{\partial c} \cdot \frac{\partial c}{\partial v},$$

woraus $\frac{\partial p}{\partial c} = RT$, weil $p = cRT$ (Lösungstheorie), außerdem ist noch

$$\frac{\partial c}{\partial \varphi} = \frac{u}{v},$$

wenn u die in das Gel konzentrierte Menge ist und

$$\frac{\partial c}{\partial v} = \frac{n}{v^2},$$

wo n die in dem Volumen v gelöste Anzahl Mole ist.

Danach ist:

$$\frac{\partial \pi}{\partial c} = u \frac{RT}{c}.$$

Letztere Formel kann auf zwei Wegen verifiziert werden. Vor allem direkt durch Bestimmung der Größen, die in ihr vorkommen: bezüglich dieser direkten Verifikation liegen noch keine Versuche vor. Andererseits ist eine indirekte Verifikation möglich, sie liegt in der Ausführung von Adsorptions- und Quellungsversuchen der Art, wie ich sie zu Ausgang erwähnt habe.

Es soll erst die Möglichkeit der direkten Verifikation, weiter unten dann die indirekte Verifikation besprochen werden. Zur direkten Verifikation ist ein Apparat nötig, der folgenden Ansprüchen genügt. Er muß eine Kammer für das Gel enthalten und eine zweite Kammer für eine Lösung, die sich im Verteilungsgleichgewicht mit dem Gel befindet. Die beiden Kammern müssen durch eine siebartig durchsetzte Wand getrennt sein (oder Ultrafilter), und es muß der Quellungsdruck, den das Gel auf diese Scheidewand ausübt, meßbar sein. Durch Bewegung der Scheidewand muß es möglich sein, eine beliebige Menge der im Gel befindlichen Lösung auszupressen. Es muß möglich sein, die Konzentration der Lösung, die sich im Gleichgewicht mit dem Gel befindet, beliebig zu verändern, sowie die darin auftretenden Konzentrationsveränderungen zu beobachten.

Das Schema eines solchen Apparates wird durch umstehende Figur 2 gezeigt. Die Verifikation der Formel (1) könnte mit Hilfe dieses Apparates im einzelnen folgendermaßen geleitet werden:

1. $\frac{\partial \pi}{\partial c}$ läßt sich bestimmen, indem wir

a) die Konzentration der Lösung bestimmen (sie sei c_1) und den Quellungsdruck bestimmen (er sei π_1),

b) wir verändern die Konzentration der Lösung und regulieren den Druck auf die Weise, daß das Volumen des Gels unverändert bleibt,

c) nachdem sich Gleichgewicht eingestellt hat, messen wir die Konzentration (sie sei c_2), und den Quellungsdruck (er sei π_2), aus diesen ergibt sich dann (annähernd):

$$\frac{\partial \pi}{\partial c} = \frac{\pi_1 - \pi_2}{c_1 - c_2}.$$

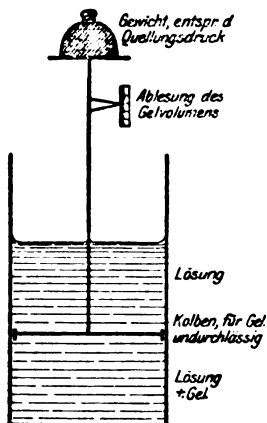


Fig. 2.

2. u läßt sich bestimmen, indem wir vom gleichen Zustande ausgehen wie bei der Ermittlung der Konzentration c_1 und bei Kenntnis des Volumens v der Lösung die siebartige Scheidewand um ein bekanntes Maß verschieben. Die Lösung wird jetzt wieder analysiert (die gefundene Konzentration sei jetzt c_1').

Würde das Volumen des Gels um $\Delta \varphi$ vermindert, so berechnet sich mit Hilfe der Mischungsregel

$$u = \frac{c_1'(\Delta \varphi + v) - v c_1 - c_1 \Delta \varphi}{\Delta \varphi}.$$

In Beziehung zur experimentiellen Verifizierbarkeit möge noch erwähnt werden, daß $\frac{\partial \pi}{\partial c}$ außer von der Konzentration der Lösung auch noch in hohem Maße vom Grade der Quellung, also von der Konzentration des Gels, abhängt, so daß z. B. folgender Fall, den wir zur Orientierung über die Größenordnung von u numerisch berechnet haben, sicher realisierbar ist. Bei $\frac{\partial \pi}{\partial c} = 50$ Atm. pro Mol, $c = 0,01$ und Zimmertemperatur wäre:

$$u = \frac{50 \cdot 0,01}{0,082 \cdot 293} = 0,02.$$

Es sei betont, daß die abgeleitete Gesetzmäßigkeit außer den II. Hauptsatz allein die Voraussetzung der Umkehrbarkeit enthält. Auf diese Voraussetzung kehren wir am Schlusse der Arbeit zurück. Weitere Voraussetzungen über die Natur der Adsorption (etwa über chemische Verhältnisse des gelösten Stoffes usw.) sind nicht enthalten.

Die indirekte Verifikation meiner Formel ruht auf einer

weniger sicheren Grundlage als die direkte. Wie aus den obigen Ausführungen ersichtlich, hat ein quellungsbefördernder Stoff stets ein positives κ .

Denken wir uns, daß wir ein Gel, das eine Lösung positiv in sich konzentriert (also positives κ besitzt) kontinuierlich so lange mit einem siebartig durchsetzten Kolben komprimieren, bis alle Flüssigkeit aus ihm entfernt ist; falls κ während der fortgesetzten Kompression immer positiv bleibt, so wird die insgesamt abgegebene Flüssigkeit konzentrierter sein als die Lösung, die ursprünglich im Gleichgewicht zum Gel stand. Die Konzentration dieser letzteren möge mit c bezeichnet werden.

Setzen wir zweitens voraus, daß man durch diese Kompression das Gel in trockenem und reinem Zustande abgeschieden hat, so folgt, daß die ausgepreßte Flüssigkeit identisch ist mit jener Flüssigkeit, die das Gel in sich aufnehmen würde, wenn man es in einer unendlichen Menge einer Lösung der Konzentration c bis zum Quellungsmaximum hätte aufquellen lassen. Bei Gültigkeit dieser beiden Voraussetzungen würde also eine positive Konzentration der Lösung (positives κ) stets mit einer positiven Adsorption der Lösung von seiten des Gels verbunden sein. Auf Grund dieser letzten Überlegungen wären wir also zu der erwähnten Regel gelangt, daß quellungsfördernde Stoffe positiv, quellungshindernde Stoffe negativ adsorbiert werden.

Aus der Natur der gemachten Voraussetzungen ergibt sich, daß Abweichungen von der abgeleiteten Regel überall dort sich zeigen werden, wo der gelöste Stoff (oder das Lösungsmittel) ungleichmäßig an das Gelgerüst gebunden ist, wo z. B. (nach der gewöhnlichen Ausdrucksweise) ein Teil „adsorbiert“, ein anderer Teil „chemisch“ gebunden ist. Diese Ungleichmäßigkeit wird sich in einer diskontinuierlich verschiedenen Abtrennbarkeit zweier Fraktionen der im Gel aufgenommenen Stoffe äußern. Wo diese nicht besteht, ist die Gültigkeit der Regel zu erwarten, solange die betrachteten Vorgänge reversibel sind. Finden sich andererseits irgendwo Abweichungen von der Regel, so wird man nach einer Irreversibilität der Adsorption oder nach zwei verschiedenen Fraktionen suchen.

Daß Säuren, Alkalien und Neutralsalze in verdünnten

Lösungen die Quellung der Eiweißgele beeinflussen und dabei reversibel und gleichmäßig gebunden werden, ist bekannt. Die Gültigkeit der Regel ist also hier zu erwarten und findet sich auch bestätigt. Ohne das diesbezügliche Versuchsmaterial eingehend besprechen zu wollen, weise ich nur einerseits auf die bekannte Tatsache, daß Säuren und Alkalien die Quellung fördern und positiv adsorbiert werden, andererseits darauf, daß mir die Versuche Dumanskis¹⁾ den Beweis zu liefern scheinen, daß auch alle von ihm untersuchten Neutralsalze die oben abgeleitete Regel befolgen.

Ich möchte noch einige bekannte Fälle erwähnen, wo es klar zutage tritt, daß die Ausnahmen, die sich von der Regel zeigen, auf Irreversibilitäten zurückführbar sind. So ist die einschrumpfende Wirkung von HCHO -, J - und HgCl_2 -Lösungen auf Eiweißgele bekannt, auch wissen wir, daß diese Stoffe von Eiweiß gebunden werden. Es besteht also ein Widerspruch zur Regel, die sich durch die Irreversibilität des Vorganges erklärt.

II. Beeinflussung des osmotischen Druckes und Adsorption in kolloiden Lösungen.

Denken wir uns die oben beschriebene Anordnung (siehe Fig. 1) mit dem Unterschied, daß wir an Stelle des Gels die Lösung eines Kolloids C haben. Der untere Kolben ist dann für die Lösung von A in B durchlässig und undurchlässig für das Kolloid. Der Druck, der auf ihm lastet, ist, statt des Quellungsdruckes, der osmotische Druck des Kolloids. Bekanntlich läßt die Art der Lösung, die das Lösungsmittel des Kolloids bildet, den osmotischen Druck desselben nicht unbeeinflußt. Die Verschiebungen des oberen Kolbens werden also auch hier den Druck beeinflussen, der auf dem unteren Kolben lastet. Andererseits wird auch entsprechenderweise bei der Veränderung der Konzentration des Kolloids die Lösung im II. Fache sich an gelösten Stoff anreichern oder an ihm verarmen. Analog wie beim Gel können wir also hier von einer Konzentrationsfähigkeit der kolloiden Lösung sprechen. Auf diese Weise gelangt man über einen, dem obigen ganz analogen Weg zu

¹⁾ l. c.

einer quantitativen und qualitativen Gesetzmäßigkeit, und zwar erstens dazu, daß $\frac{dp}{dc} = u' \cdot \frac{RT}{c}$ ¹⁾, zweitens dazu, daß alle Stoffe, die den osmotischen Druck erhöhen, durch das Kolloid in seiner Lösung positiv adsorbiert werden und daß andererseits aus Lösungen, die den osmotischen Druck vermindern, das Kolloid das Lösungsmittel entzieht. (Negative Adsorption des gelösten Stoffes.)

Es gelten bezüglich dieser Regel dieselben Einschränkungen, wie bei der analogen auf Gele bezüglichen Regel, es muß nämlich die Vereinigung der Lösungsbestandteile mit dem Kolloid gleichmäßig und reversibel erfolgt sein.

Über die Beziehungen dieser Regel zur Erfahrung soll nur die bekannte Tatsache erwähnt werden, daß der osmotische Druck von Eiweißlösungen durch Säuren und Alkalien erhöht wird, und daß dieselben Stoffe auch im hohem Maße adsorbiert werden.

Alle bisher entwickelten Zusammenhänge bestehen nur unter der Voraussetzung, daß die gedachten Verschiebungen der Kolben umkehrbar verlaufen können. Was wir damit annehmen, ist eigentlich das, daß das System Gel-Lösung bzw. gelöstes Kolloid in Lösung bei verschiedener Konzentration des Gels und des Kolloids ein stabiles ist.

Diese Voraussetzung kann auf verschiedene Weise ungültig werden. Das Gel (oder Kolloid) kann auf verschiedene Weisen „altern“, es kann sich die Festigkeit der Bindung der gebundenen Stoffe mit der Zeit ändern. Wenn minimale Verschiebungen elektrische Erscheinungen auslösen, so müssen dabei ebenfalls nicht umkehrbare Vorgänge sich abspielen, und es kann das Gleichgewicht kein stabiles sein. Insbesondere wird im Falle, daß der gebundene Stoff ein Kolloid ist, seine Ausfällung und Fixation im Gel voraussichtlich, bei den gut dissoziierenden Elektrolyten sind dagegen elektrische Erscheinungen in Betracht zu ziehen.

¹⁾ Wo p den osmotischen Druck des Kolloids und u die in die kolloide Lösung konzentrierte Menge eines Lösungsbestandteiles bedeutet.

Zusammenfassung.

1. Steht ein Gel im Gleichgewicht zu einer Lösung, so gilt:

$$u = \frac{c}{RT} \frac{d\pi}{dc}.$$

2. Der schon öfters vermutungsweise geäußerte Satz, daß quellungsfördernde Stoffe positiv, quellungshindernde Stoffe negativ adsorbiert werden, gilt unter bestimmten, verifizierbaren Voraussetzungen als strenge Regel. Es ist zu erwarten, daß diese Voraussetzungen erfüllt sind, wenn der adsorbierte Stoff gleichmäßig (kontinuierlich) abtrennbar und die Adsorption reversibel ist.

3. Für das Gleichgewicht eines kolloid gelösten Stoffes zu der Lösung, die ihm als Lösungsmittel dient, gilt:

$$u' = \frac{c}{RT} \frac{dp}{dc}.$$

4. Unter analogen Voraussetzungen, wie sie unter 2. erwähnt wurden, werden Stoffe, die den osmotischen Druck von Kolloiden erhöhen, durch das Kolloid in Lösung positiv, dagegen Stoffe, die den osmotischen Druck erniedrigen, negativ adsorbiert.

Hierin sind:

u die in das Gel konzentrierte Menge des gelösten Stoffes,

u' die in die kolloide Lösung konzentrierte Menge des gelösten Stoffes,

T die absolute Temperatur,

c die Konzentration der Lösung,

p der osmotische Druck der kolloiden Lösung,

π der Quellungsdruck des Gels,

R die Gaskonstante.

Einige experimentelle Untersuchungen über die Frage der Entstehung und Spezifität der Bluttermente bei Anwendung des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens.

Von

O. S. Parsamow.

(Aus dem pathologischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für Experimentalmedizin.)

(Eingegangen am 7. Juni 1914.)

Die Frage über die Entstehung und Spezifität der Bluttermente bei einzelnen Abweichungen des Organismus von der Norm ist, wie bekannt, bis zum heutigen Tage noch unaufgeklärt. Es gibt schon eine Reihe experimenteller Untersuchungen, um Licht in dieses dunkle Gebiet zu bringen. Ich will hier nur hinweisen auf die Mitteilungen von Fuchs¹⁾, Mayer²⁾, Hirsch³⁾ und Kafka⁴⁾.

Ich will nicht näher auf die Befunde der erwähnten Autoren eingehen, sondern nur in Kürze meine Untersuchungen auf diesem Gebiete mitteilen. Eine genaue Beschreibung aller Versuche über dieses Thema wird in meiner Doktorarbeit (in russischer Sprache) erfolgen.

Meine Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt.

I. Nachdem Vorversuche ergeben hatten, daß das Blut bestimmter Kaninchen (männlicher) frei von Fermenten war, unterbanden wir ihnen bei strengster Beobachtung der Asepsis dieses oder jenes Organ, mit völliger Unterbrechung des Zuflusses und Abflusses von Blut, und von Zeit zu Zeit wurde den Kaninchen Blut entnommen und die Einwirkung desselben auf die verschiedenen Kaninchenorgane untersucht.

Wir rechneten dabei natürlich darauf, die spezifischen autolytischen Fermente abzufangen, die allmählich aus den degene-

¹⁾ Fuchs, Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 40.

²⁾ Mayer, Münch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 52.

³⁾ Hirsch, Deutsche med. Wochenschr. 1914, Nr. 6.

⁴⁾ Kafka, Med. Klin. 1914, Nr. 4.

rierenden Organen austraten. Hierbei muß ich erwähnen, daß ich bei allen Versuchen mich auf das Genaueste an die Vorschriften von Abderhalden in „Abwehrfermente“, 3. Aufl., gehalten habe.

In einer anderen Serie von Versuchen führten wir normalen, auf Abwesenheit von proteolytischen Fermenten im Blute untersuchten Tieren in die Bauchhöhle Extrakte von verschiedenen Kaninchenorganen. Die Extrakte wurden auf folgende Weise zubereitet:

Die von Blut ausgewaschenen Stückchen des entnommenen Organes wurden mit einer geringen Menge physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von Sand im Mörser im Verlauf von 10 bis 15 Minuten zerrieben; die erhaltene Emulsion, verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung, wurde zentrifugiert und das opaleszierende Zentrifugat intraperitoneal eingeführt. Es versteht sich von selbst, daß alle Manipulationen streng aseptisch ausgeführt wurden.

In den beigefügten zwei Tabellen — der einen für die erste Serie von Versuchen, der zweiten für die zweite Serie — sind alle die Versuche betreffenden Resultate angeführt.

Vorläufige Versuche mit Einverleibung von Trypsinogen.

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Mus- keln	Niere	Milz	Leber	Hoden	Neben- niere	
Injektion von 2 ccm Trypsinogen in die Vene.							
5 Min.	++				+		—
15 "		+	+			+	—
1 Std.	—			—	—		—
1 Tag	—		—				—
Per os eingeführt 2 g Trypsinogen.							
30 Min.	++	++					—
1 Std.	+		+				—
2 1/2 "				+	+		—
1 Tag	+	+					—
2 Tagen	+	±?		+			—
In die Bauchhöhle injiziert 5 ccm Trypsinogen.							
30 Min.	++	++				++	—
1 Tag	+	+		+			—
2 Tagen	—	—		—			—
5 "	—	—		—			—

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Mus- keln	Niere	Milz	Leber	Hoden	Neben- niere	
Per os eingeführt 5 g Trypsinogen.							
1 Std.	++	++		++			—
1 Tag	+	+		+			—
2 Tagen	+	±?					—
3 "	—	—		±?			—
5 "	—	—		—			—
Per os eingeführt 5 g Trypsinogen.							
2 Std.		++	++			++	—
1 Tag		+			+	+	—
3 Tagen		—			—	—	—
Injektion von 2 ccm inaktiven Trypsino- gens in die Vene.							
15 Min.	—	—		—	—	—	—
30 "	—	—		—	—	—	—

Bezeichnungen: — negative Reaktion; + schwach positive Reaktion; ++ deutlich positive Reaktion; ±? undeutliche Reaktion.

Tabelle I.

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Mus- keln	Niere	Leber	Neben- niere	Hoden	Binde- gewebe	
Kaninchen Nr. 1.							
Unterbindung der Hoden.							
1 Tag	—	—	—	—	—	—	—
2 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
7 "	—	—	—	—	±?	—	—
15 "	+	—	—	—	+	—	—
24 "	+	—	+	—	++	—	—
41 "	—	+	—	—	++	—	—
50 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 2.							
Unterbindung der Hoden.							
1 Tag	—	—	—	—	±?	—	—
4 Tagen	—	—	—	—	+	—	—
8 "	—	+	—	—	++	—	—
14 "	+	—	—	—	++	—	—
24 "	+	—	++	—	++	—	—
41 "	—	+	—	—	++	—	—
50 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 3.							
Unterbindung der Nebenniere (rechts).							
5 Tagen	+	+	—	+	+	—	—
12 "	—	—	—	+	+	—	—
18 "	—	+	+	++	+	—	—
23 "	—	—	—	±?	—	—	—
25 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 4.							
Unterbindung der Nebenniere (links).							
2 Tagen	—	—	—	++	—	—	—
6 "	+	—	+	++	—	—	—
18 "	—	++	+	++	+	—	—
26 "	+	—	—	++	—	—	—
25 "	—	±?	—	±?	—	—	—
37 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 5.							
Unterbindung der Leber.							
3 Tagen	±?	—	+	—	—	—	—
10 "	++	++	++	—	—	—	—
21 "	—	++	++	++	—	—	—
28 "	—	+	+	—	—	—	—
32 "	—	±?	+	—	—	—	—
36 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 6.							
Unterbindung der Leber.							
3 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
10 "	—	—	—	—	—	—	—
12 "	—	—	+	—	—	—	—
21 "	—	—	+	—	—	—	—
28 "	—	—	—	—	—	—	—

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Mus- keln	Niere	Leber	Neben- niere	Hoden	Binde- gewebe	
Kaninchen Nr. 7.							
Unterbindung der Niere (rechts).							
2 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
12 "	—	+	+	—	—	+	—
18 "	+	+	+	—	—	—	—
25 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 8.							
Unterbindung der Niere (links).							
3 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
11 "	—	—	—	—	—	—	—
16 "	—	±?	—	—	—	—	—
21 "	—	++	—	—	—	—	—
32 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 9.							
Unterbindung der Schilddrüse.							
2 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
5 "	—	—	—	—	—	+	—
19 "	—	—	—	+	—	++	—
30 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 10.							
Unterbindung der Schilddrüse.							
2 Tagen	—	—	—	—	—	±?	—
5 "	—	—	—	—	—	+	—
14 "	—	—	—	±?	—	+	—
18 "	—	—	—	+	—	+	—
30 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 11.							
Unterbindung der Eierstöcke.							
2 Tagen	—	—	—	—	+	—	—
5 "	—	—	—	±?	++	—	—
12 "	—	—	—	+	+	—	—
24 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 12.							
Unterbindung der Eierstöcke.							
2 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
4 "	—	—	—	—	+	—	—
6 "	—	—	—	+	+	—	—
12 "	—	—	—	—	±?	—	—
18 "	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle I (Fortsetzung).

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Mus- keln	Niere	Leber	Hoden	Eier- stock	Bauch- speicheldrüse	
Kaninchen Nr. 13.							
Unterbindung der Bauchspeicheldrüse.							
3 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
10 "	—	—	—	—	—	++	—
17 "	—	—	+	—	—	++	—
24 "	+	—	+	+	—	++	—
32 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 14.							
Unterbindung der Bauchspeicheldrüse.							
3 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
10 "	++?	—	++	—	—	++	—
24 "	—	—	—	—	—	+	—
33 "	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 15.							
Unterbindung einiger Muskeln.							
5 Tagen	—	—	—	—	—	—	—
11 "	+	—	+	—	—	—	—
20 "	+	—	+	+	—	—	—
23 "	+	—	—	—	—	—	—
25 "	—	—	—	—	—	—	—

Blutent- nahme nach	Serum plus							Serum allein
	Mus- keln	Niere	Milz	Leber	Hoden	Neben- niere	Binde- gewebe	
Kaninchen Nr. 16.								
Unterbindung der Milz.								
1 Tag	—	—	+	—	—	—	—	—
4 Tagen	—	—	++	—	—	—	—	—
11 "	+	+	++	+	—	—	—	—
22 "	—	++?	+	+	—	—	—	—
30 "	—	—	+	—	++?	—	—	—
38 "	—	—	++?	—	—	—	—	—
41 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Kaninchen Nr. 17.								
Unterbindung der Milz.								
2 Tagen	—	—	++?	—	—	—	—	—
4 "	+	—	++	++?	—	—	—	—
14 "	—	+	++	—	—	—	—	—
24 "	—	—	+	+	—	—	—	—
30 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Aus diesen Tabellen ersehen wir deutlich, daß es sowohl nach der Unterbindung eines Organes wie nach der Einspritzung eines Organextraktes in das Peritoneum — besonders aber nach der letzten Methode — gelingt, eine positive Ninhydrinreaktion zu erzielen, die spezifisch ist für das unterbundene Organ oder dasjenige, das als Extrakt diente. Natürlich kann man nicht behaupten, daß die Reaktion immer streng spezifisch ist. So sehen wir, wenn wir die Tabelle I betrachten, daß außer dem unterbundenen Organ, das nach einem gewissen Zeitraum nach der Unterbindung stets eine positive Reaktion zeigte, daß auch das eine und das andere nicht unterbundene Organ von Zeit zu Zeit eine positive Reaktion ergab. Aber andererseits ist auch der Umstand hervorzuheben, daß, während bei der Unterbindung einzelner Organe, z. B. der Schilddrüse, des Eierstockes, eine positive Reaktion mit den übrigen Organen verhältnismäßig selten zu erzielen war, bei Unterbindung anderer Organe, z. B. der Leber, Milz, Nieren, Nebennieren, Bauchspeicheldrüse, Muskeln, Hoden, diese jedoch häufiger eintrat.

Was die Tabelle II anbetrifft, so sehen wir hier, daß bei Injektion von Organextrakt eine positive Reaktion nur mit dem Organ zu erzielen war, welches als Material für den Extrakt gedient hatte, mit Ausnahme der Leber, wo wir einmal eine undeutliche Reaktion mit Muskelgewebe und einmal mit der Milz erhielten.

II. Die Frage über die Spezifität der sog. Abwehrfermente begann sich zu verwickeln, nachdem Petri und Heilner zeigten, daß es genügt, einem Tier (Kaninchen) eine kleine Menge autogenen Serums einzuführen, um schon nach einiger Zeit (15 bis 30 Minuten) mit dem Serum des betreffenden

Tabelle II.

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Muskel	Niere	Milz	Leber	Hoden	Eier- stock	
Injektion von Milzextrakt.							
2 Std.	—	—	+	—	—	—	—
1 Tag	—	—	++	—	—	—	—
3 Tagen	—	—	+	—	—	—	—
5 "	—	—	++?	—	—	—	—
8 "	—	—	—	—	—	—	—
Injektion von Milzextrakt.							
2 Std.	—	—	+	—	—	—	—
2 Tagen	—	—	++	—	—	—	—
4 "	—	—	+	—	—	—	—
6 "	—	—	—	—	—	—	—

Blut- entnahme nach	Serum plus						Serum allein
	Muskel	Niere	Milz	Leber	Hoden	Eier- stock	
Injektion von Hodenextrakt.							
2 Std.	—	—	—	—	+	—	—
1 Tag	—	—	—	—	++	—	—
2 Tagen	—	—	—	—	++	—	—
Injektion von Eierstockextrakt							
2 Std.	—	—	—	—	—	—	—
1 Tag	—	—	—	—	—	+	—
2 Tagen	—	—	—	—	—	++	—
Injektion von Leberextrakt.							
2 Std.	—	—	—	+	—	—	—
1 Tag	—	++?	—	++	—	—	—
2 Tagen	—	—	—	++	—	—	—

Individuums eine positive Ninhydrinreaktion, z. B. mit Muskelgewebe, zu erhalten. Diese Beobachtung von Petri und Heilner, die auch von anderen Seiten bestätigt wurde, konnte auch von uns¹⁾ an einer großen Menge von Kaninchen festgestellt werden. Uns erschien es interessant, daß der Organismus auf so ein autogenes Material wie das Serum reagieren kann. Es ist klar, daß der Organismus sich zu seinem Serum wie zu fremdem Material verhalten kann. Und in der Tat ist das autogene Serum, auch wenn es augenscheinlich normale Blutbestandteile enthält, selbst kein normaler Bestandteil des Organismus. Als normaler Blutbestandteil ist das Plasma anzusehen, und daher

¹⁾ O. S. Parsamow, Wratschebnaja Gaseta 1914, Nr. 7.

schien es uns von Interesse, zu untersuchen: wird der Kaninchenorganismus auf das Blutplasma durch Mobilisation der Fermente reagieren? Wir machten in dieser Beziehung drei Versuche, wobei wir bei einzelnen Kaninchen Blut entnahmen, bereiteten aus demselben Plasma durch Zentrifugieren bei 0° in mit Paraffin beschickten Gefäßen und führten dieses Plasma anderen Kaninchen mittels einer Spritze in die Ohrvene ein. Es erwies sich, daß in keinem einzigen Falle, weder am Versuchstage noch am nächsten Tage, die Ninhydrinreaktion mit dem Plasma der so behandelten Kaninchen und mit Stücken vom Kaninchenmuskel ein positives Resultat ergab. Hieraus können wir den Schluß ziehen, daß der Organismus auf das Serum, auch auf autogenes, wie auf ihm fremdes Material reagieren kann, aber nicht auf das Plasma.

III. Den Anlaß für folgende Serie von Versuchen gab mir der Gedanke: wodurch kann man sich die Unbeständigkeit der Spezifität der künstlich hervorgerufenen Fermente in der obigen Serie von Versuchen erklären?

Wir entnehmen stets das Blut bei Tieren mit vollständig leerem Magen. Es ist aber bekannt, daß die Verdauungsfermente periodisch auch außerhalb der Verdauungsperiode ausgeschieden werden. Diese Fermente, welche kein Substrat im Darm finden, werden als solche resorbiert und gehen in das Blut über, wo sie die Spezifität der in ihm enthaltenen Fermente verwischen können. Daß die Verdauungsfermente das Blut passieren müssen, ist deshalb klar, weil wir sie beständig im Harn finden. Um uns die Bedeutung dieses Faktors klar zu machen, beschlossen wir, Versuche mit Einführung natürlichen Bauchspeicheldrüsenferments in den Darm zu machen. Zu diesem Zweck benutzten wir den im Handel käuflichen trockenen Bauchspeicheldrüsenensaft (Trypsinogenum activatum „Pharmakon“). Die vorläufigen Versuche zeigten uns, daß, wenn man einem Kaninchen mit der Sonde in den Magen von 2 bis 5 g Trypsinogen, in 40 bis 50 ccm Wasser gelöst, einführt, man schon nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde im Blut durch die Dialysiermethode ein proteolytisches, aber nicht spezifisches Ferment feststellen kann, das auf verschiedene Kaninchenorgane wirkt (Muskel, Milz, Niere, Leber, Hoden, Nebenniere). Dieses Ferment hält sich im Blute etwa 2 mal 24 Stunden.

Tabelle III.

Blutent- nahme nach	Serum plus						Serum allein
	Muskel	Niere	Milz	Leber	Hoden	Neben- niere	
Injektion von Milzextrakt.							
2 Std.	—	—	—	—	—	—	—
1 Tag	—	—	++	—	—	—	—
Per os eingeführt 2 g Trypsinogen.							
2 Std.	++	++	++	++	—	—	—
1 Tag	+	+	+	+	+	—	—
2 Tagen	—	+	±?	—	—	—	—
Injektion von Milzextrakt.							
2 Std.	—	—	+	—	—	—	—
1 Tag	—	—	++	—	—	—	—
Per os eingeführt 1½ g Trypsinogen.							
2 Std.	+	+	++	++	+	—	—
1 Tag	—	—	+	+	+	—	—
2 Tagen	—	—	+	—	±?	—	—
Injektion von Hodenextrakt.							
2 Std.	—	—	—	—	—	—	—
1 Tag	—	—	—	—	++	—	—
Per os eingeführt 1½ g Trypsinogen.							
2 Std.	+	—	—	+	+	—	—
1 Tag	±?	—	—	+	+	—	—
2 Tagen	—	—	—	+	—	—	—

Blutent- nahme nach	Serum plus						Serum allein
	Muskel	Niere	Milz	Leber	Hoden	Neben- niere	
Injektion von Eierstockextrakt.							
2 Std.	—	—	—	—	—	—	±?
1 Tag	—	—	—	—	—	—	+
Per os eingeführt 2 g Trypsinogen.							
2 Std.	+	+	+	++	—	—	++
1 Tag	+	+	+	+	—	—	+
2 Tagen	±?	—	—	—	—	—	+
Injektion von Leberextrakt.							
2 Std.	—	—	—	+	—	—	—
1 Tag	—	—	±?	++	—	—	—
Per os eingeführt 2 g Trypsinogen.							
2 Std.	—	—	—	—	—	—	—
1 Tag	+	—	—	+	+	—	—
2 Tagen	+	—	—	++	++	—	—
5 "	±?	—	—	+	+	—	—
10 "	—	—	—	—	—	—	—

Durch diesen vorläufigen Versuch wurden wir zu einer Reihe von Versuchen veranlaßt, um experimentell das spezifische Ferment auszuschließen. Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: Beim Kaninchen wurde das Erscheinen des spezifisch wirkenden Fermentes im Blut durch Einspritzung eines Extraktes von Hoden, Eierstock, Leber, Milz hervorgerufen. Nachdem die Probe gezeigt hatte, daß eine positive Ninhydrinreaktion nur mit dem Organe, das als Material für die Injektion gedient hatte, zu erzielen war, wurde einem Kaninchen durch die Sonde eine Trypsinogenlösung eingeführt und nach 2 Stunden, 24 Stunden und 2 mal 24 Stunden ein Versuch mit Dialyse aufgestellt. Es erweist sich, wie dieses aus der Tabelle III zu ersehen ist, daß bei fragloser Anwesenheit von spezifischem Ferment im Blut das in den Magendarmtraktus eingeführte Trypsinogen auf längere Zeit eine Ausschließung dieses Fermentes bedingt. Auf diese Weise ist experimentell bewiesen, daß die Verdauungsfermente die Anwesen-

heit von spezifischem Ferment im Blute verwischen können.

Wir führten der Deutlichkeit der Resultate wegen eine verhältnismäßig große Menge Ferment ein, doch ist es klar, daß bei verschiedenen pathologischen Bedingungen eine Hypersekretion der Verdauungssäfte vor sich gehen kann, die eine Analogie mit den künstlich von uns hervorgerufenen Zuständen haben. Es ist kaum nötig, zu erwähnen, daß bei reichlicher Sekretion, die auch während des Verdauungsaktes möglich ist, das im Blut erscheinende proteolytische Ferment bei der Dialyse den Grund zur positiven Ninhydrinreaktion auch dann geben kann, wo ein spezifisches Ferment gar nicht erwartet werden kann.

Gleichzeitig wollen wir noch auf folgendes hinweisen, das, wenn es auch nicht in direkter Beziehung zur gegebenen Frage steht, so doch nicht ohne praktische Bedeutung für die experimentelle Therapie ist, die mit der sich in der jetzigen Zeit entwickelnden Lehre über die Blutfermente in Zusammenhang steht.

Wir sind bis jetzt noch vollständig unorientiert über die physiologische Rolle, welche die Blutfermente bei verschiedenen Bedingungen spielen; von diesem Standpunkt aus verdient, wie uns scheint, der Umstand eine Beachtung, daß wir, von den eben erwähnten Versuchen ausgehend, die Möglichkeit haben, auf die Bereicherung des Blutes mit proteolytischen Fermenten durch verhältnismäßig reichliche Einführung desselben per os einzuwirken. Wir haben bei unseren Kaninchen niemals irgendwelche ungünstige Einwirkung von der Einführung auch verhältnismäßig großer Mengen (5 g) von Trypsinogen in den Magen gesehen. Natürlich kann man dieses nicht ohne weitere Untersuchungen auch auf alle vorhandenen Fermentpräparate der Bauchspeicheldrüse übertragen, da das Präparat, das wir brauchten (bezogen von der Firma „Pharmakon“, Petersburg), wie bekannt, einen natürlichen Pankreassaft repräsentiert ohne jegliche fremde Beimischung.

Der irreziproke Charakter des Antagonismus zwischen Anionen und Kationen.

Von

Jacques Loeb.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.)

(Eingegangen am 10. Juni 1914.)

I.

In seinen frühesten Versuchen über die antagonistischen Salzwirkungen am Fundulusei hatte der Verf. gezeigt, daß bei diesen Erscheinungen die elektrische Ladung und die Wertigkeit der Ionen eine in mancher Hinsicht ähnliche Rolle spielen wie bei der Fällung von kolloidalen Lösungen¹⁾. Es war nämlich möglich, die Giftwirkung von Salzen mit einwertigem Kation durch Spuren von Salzen mit einem zweiwertigen Kation aufzuheben, während die Salze mit mehrwertigem Anion keine entgiftende Wirkung hatten. Es ergab sich bei diesen Versuchen u. a. das paradoxe Resultat, daß die Giftwirkung einer Chlornatriumlösung durch Zusatz so giftiger Salze wie die von Barium, Zink, Mangan u. a. verringert werden konnte. Bei diesen Versuchen handelte es sich um eine Wirkung der Ionen auf die Durchgängigkeit der Membran, welche die Fischeier umgibt. Diese Membran ist für Salze und Wasser praktisch undurchgängig. In einer reinen NaCl-Lösung von der Konzentration, in der dieses Salz im Seewasser enthalten ist, wird die Membran rasch durchgängig und das führt zum Tode des Embryo. Der Zusatz einer Spur eines Salzes mit zweiwertigem Kation verhindert diese Erhöhung der Durchgängigkeit²⁾. Es liegt nahe anzunehmen, daß die Wirkung

¹⁾ Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 88, 68, 1901; Amer. Journ. of Physiol. 6, 411, 1902; Loeb und Gies, Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 246, 1902.

²⁾ Loeb, diese Zeitschr. 47, 127, 1912.

der mehrwertigen Kationen in einer Fällung eines Kolloids besteht, wie das zuerst von T. B. Robertson vermutet wurde.

Während diese Versuche an den Eiern der Fische ausgeführt waren, sind die folgenden Versuche an den ausgewachsenen Fischen angestellt.

Wir wollen in dieser Abhandlung auf die Irreziprozität im Antagonismus von Kationen und Anionen hinweisen, nämlich, daß es leicht gelingt Anionen durch mehrwertige Kationen zu entgiften, daß aber die Entgiftung von Kationen durch mehrwertige Anionen nicht oder nur in geringem Maße gelingt. Die Tatsachen, von denen schon in den früheren Arbeiten gelegentlich die Rede war, sind von der einfachsten Art. Wenn wir Lösungen verschiedener Natriumsalze in den Konzentrationen herstellen, in denen sie die Fische (*Fundulus*) in weniger als einem Tage töten, so gelingt es mittels des Zusatzes von CaCl_2 oder MgCl_2 oder anderer Salze mit zweiwertigem Kation, die Fische eine Reihe von Tagen am Leben zu halten¹⁾. Machen wir nun den umgekehrten Versuch und stellen wir die ebenso giftige Konzentration eines Salzes her, bei dem das Kation das nachweisbar oder vermutlich giftige Salz ist (z. B. CaCl_2 , MgCl_2 , LiCl , NH_4Cl), so gelingt es gar nicht oder fast gar nicht, eine merkliche Entgiftung durch Zusatz mehrwertiger Anionen herbeizuführen. So sterben die Fische in Natriumcitratlösungen, deren Konzentrationen über $\frac{m}{400}$ liegt in weniger als einem Tage; fügt man der Lösung aber etwas CaCl_2 oder MgCl_2 zu, so leben sie eine lange Reihe von Tagen. Das Anion des Calciumsalzes ist dabei von untergeordneter Bedeutung. In den folgenden Versuchen ist die Lebensdauer der Fische in Tagen angegeben. Je 4 Fische waren in 500 ccm der Lösung. Die Lebensdauer ist die Zeit, in der der letzte Fisch starb. 0 bedeutet, daß die Fische in weniger als 24 Stunden alle starben.

Der Versuch (Tabelle I) ist typisch für viele ähnliche, die angestellt wurden. Während die Fische schon in einer $\frac{m}{400}$ bis $\frac{m}{200}$ Natriumcitratlösung alle in weniger als 24 Stunden starben, leben sie in einer 8 oder 16 mal stärkeren Lösung von Natriumcitrat 12 bis 14 Tage, wenn man nur etwas CaCl_2 oder MgCl_2 zusetzt. CaCl_2 ist in $\frac{m}{100}$ -Lösungen wirksamer als MgCl_2 . In

¹⁾ Loeb, diese Zeitschr. 32, 308, 1911.

$\frac{m}{100}$ -CaCl₂ bewirken die Lösungen von Natriumcitrat, die hier benutzt wurden, keinen Niederschlag.

Tabelle I.

Giftige Lösung Natriumcitrat. Entgiftende Lösung MgCl₂
resp. CaCl₂.

Lebensdauer der Fische (in Tagen).

Entgiftende Lösung	$\frac{m}{200}$	$\frac{m}{100}$	$\frac{2m}{100}$	$\frac{3m}{100}$	$\frac{4m}{100}$	$\frac{6m}{100}$	$\frac{8m}{100}$
	Natriumcitrat						
0 (Kontrolle)	0	0	0	0	0	0	0
$\frac{m}{100}$ MgCl ₂	14	14	0	0	0	0	0
$\frac{m}{16}$ MgCl ₂	3	16	15	14	15	4	0
$\frac{m}{8}$ MgCl ₂	10	6	12	13	13	13	14
$\frac{m}{4}$ MgCl ₂	2	3	2	2	2	3	2
$\frac{m}{8}$ MgSO ₄	3	4	4	3	3	1	0
$\frac{m}{100}$ CaCl ₂	16	5	14	12	12	0	0

CaCl₂, CaBr₂ und CaSO₄ wirkten ungefähr gleich gut.

Giftige Lösungen von Na₂SO₄, weinsaures, bernsteinsaures, essigsaures und salpetersaures Natrium werden in ebenso schlagender Weise durch geringe Mengen von MgCl₂ resp. CaCl₂ entgiftet. Die minimale, für die Entgiftung ausreichende Konzentration von MgCl₂ ist stets etwas höher als die von CaCl₂.

Wir können demnach die allgemeine Regel aufstellen, daß Natriumsalze, in der Konzentration, in der sie anfangen giftig zu wirken, durch die Salze mit zweiwertigem Kation (besonders Mg und Ca) entgiftet werden können. Die Calciumsalze wirken in etwas geringerer Konzentration entgiftend als die Magnesiumsalze.

II.

Wir führen nun den umgekehrten Versuch aus, nämlich sehen zu, ob die giftigen Konzentrationen von Salzen, bei denen das Kation der giftige Bestandteil ist, durch Salze mit mehrwertigem Anion entgiftet werden können. Das ist praktisch nicht der Fall.

Hier müssen wir eine kurze Betrachtung darüber einschleichen, daß in einer giftigen MgCl₂-Lösung das Mg-Ion und

nicht das Cl-Ion die Giftigkeit bestimmt. Das folgt aus folgender Überlegung. In einer $\frac{m}{4}$ -NaCl-Lösung lebt *Fundulus* meist mehrere Tage, und das Leben wird beliebig verlängert, wenn wir etwas $MgCl_2$ oder $CaCl_2$ hinzufügen. Hier könnte das Cl-Ion das giftige Ion sein, da ja das Mg-Ion entgiftend wirkt. In einer $\frac{m}{4}$ - $MgCl_2$ -Lösung sterben die Fische aber in weniger als 24 Stunden. Hierfür kann also nur das Mg-Ion verantwortlich sein, da ja die giftige Wirkung der Cl-Ionen durch den Überschuß von Mg-Ionen aufgehoben ist.

Es wurde nun der Versuch gemacht, ob es gelingt die giftige Wirkung einer $\frac{m}{4}$ - $MgCl_2$ -Lösung durch Zusatz eines Salzes mit mehrwertigem Anion zu verringern. $\frac{m}{4}$ -Lösungen von $MgCl_2$ wurden in destilliertem Wasser sowie in $\frac{m}{50}$ -, $\frac{m}{25}$ -, $\frac{3}{50}$ -, $\frac{2}{25}$ -, $\frac{m}{10}$ -, $\frac{6}{50}$ -, $\frac{15}{100}$ -Lösungen von Natriumtartrat, -succinat, -sulfat und -citrat hergestellt. Im besten Falle war es möglich, die Lebensdauer der Fische um einige Stunden zu vermehren, aber nicht um viele Tage, wie das im umgekehrten Versuche der Fall war. Es findet also nur eine minimale Entgiftung der Magnesiumsalze durch die Salze mit zwei- oder mehrwertigem Anion statt.

Mit Calciumsalzen lassen sich derartige Versuche wegen der Niederschlagsbildungen entweder nicht oder nur in beschränktem Maße anstellen. Ebensowenig werden die Salze von Kalium, Lithium und Ammonium durch SO_4 -Ionen entgiftet. Alle Versuche, Salzlösungen, in denen die Giftwirkung nachweisbar oder möglicherweise durch ein Kation bedingt war, durch Salze mit mehrwertigen Anionen zu entgiften, schlugen fehl. Alle früheren Versuche des Verfassers stützen diesen Schluß.

III.

Wir dürfen nun die Frage aufwerfen, ob auch die beiden entgegengesetzten Ionen desselben Salzes antagonistisch aufeinander wirken können. Es liegt auf der Hand, daß der Nachweis einer solchen Tatsache für das Verständnis der biologischen Salzwirkungen von großer Bedeutung sein würde. Bei der Erörterung dieser Frage müssen wir aber eine Tatsache erwähnen, die für die Beurteilung der antagonistischen Salzwirkungen sehr wesentlich ist. Wir können, wie gesagt, eine Natriumchlorid- oder Natriumsulfat- oder Natriumcitratlösung, welche die Grenze

der Giftigkeit erreicht, leicht durch Zusatz von Spuren von MgCl_2 oder CaCl_2 entgiften. Fügen wir aber wachsende Mengen von MgCl_2 oder (wo es sich um lösliche Calciumverbindungen handelt) CaCl_2 zu, so erreichen wir schließlich eine Grenze, bei der der weitere Zusatz des MgCl_2 oder CaCl_2 die Giftigkeit der Lösung wieder erhöht. Das tritt ein, wenn die Konzentration der MgCl_2 - oder CaCl_2 -Lösung die Grenze erreicht, bei der das Mg oder Ca seine giftige Wirkung zu entfalten beginnt.

Nun besitzen die verschiedenen Salze eines Ions sehr verschiedene Grade der Giftigkeit; bestimmen wir beispielsweise die minimale Konzentration, bei der die verschiedenen Natriumsalze die Fische in weniger als einem Tage töten, so finden wir sehr große Unterschiede, die wir nur auf die Verschiedenheiten der Wirksamkeit des Anions beziehen können. So ist diese giftige Konzentration für NaCl etwas über $\frac{5}{8}$ m, für Na_2SO_4 etwas über $\frac{m}{8}$ und für Natriumcitrat $\frac{m}{400}$. Die folgende Tabelle zeigt das etwas ausführlicher.

Tabelle II.

Natur des Salzes	Minimum der giftigen Konzentration
NaCl	etwa $\frac{5}{8}$ m
NaBr	etwa $\frac{m}{5}$
NaJ	$\frac{m}{20}$
NaCNS	$\frac{m}{300}$
NaCH_3COO	$\frac{m}{5}$
NaNO_3	$\frac{m}{20}$
Na_2SO_4	etwa $\frac{m}{8}$
Weinsaures Na	$\frac{m}{25}$
Bernsteinsaures Na	$\frac{m}{20}$
Oxalsaures Na	$\frac{m}{166}$
Citronensaures Na	$\frac{m}{400}$

Wenn nun tatsächlich eine gegenseitige Entgiftung der entgegengesetzt geladenen Ionen eines Salzes stattfindet, so muß sich das darin zeigen, daß im Falle eines sehr giftigen Anions die Natriumsalze giftiger sein müssen als die betreffenden Magnesium-, Calcium- oder Strontiumsalze¹⁾. Das ist auch all-

¹⁾ Weil ja die früheren Versuche des Verfassers gezeigt haben, daß Spuren der Salze mit zweiwertigem Metall die Salze mit einwertigem Metall entgiften, daß aber das gleiche nicht in demselben Grade durch Salze mit einwertigem Metall möglich ist.

gemein der Fall. Tabelle III gibt die minimalen Konzentrationen von NaNO_3 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ und $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$, welche die Fische in weniger als einem Tage töten.

Tabelle III.

Natur des Salzes	Minimum der giftigen Konzentration
NaNO_3	$\frac{m}{30}$
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	$\frac{m}{10}$
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	$\frac{m}{8}$
$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$	$\frac{m}{10}$
$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$	$\frac{m}{50}$
LiNO_3	$\frac{m}{50}$
NH_4NO_3	$\frac{m}{50}$

Während also eine NaNO_3 -Lösung schon in einer Konzentration von $\frac{m}{20}$ die Fische in weniger als einem Tage tötet, hat eine $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ -Lösung diese Wirkung erst bei einer Konzentration, die 2 mal so hoch ist. NaNO_3 ist also 2 mal so giftig wie $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $2\frac{1}{2}$ mal so giftig wie $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ und 2 mal so giftig wie $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$. Nur BaCl_2 macht eine scheinbare Ausnahme, die aber darin ihre Erklärung findet, daß Bariumsalze sich nur zur Entgiftung bei Fischeiern eignen, wo sie nicht mit den lebenden Tieren in direkte Berührung kommen; daß sie aber bei dem erwachsenen Fische nur eine sehr geringe entgiftende Wirkung üben.

Das Gesagte gilt ganz allgemein für Salze, deren Anion sehr giftig ist. Der Verfasser hat schon früher gezeigt, daß CaBr_2 , essigsäures Calcium und $\text{Ca}(\text{OH})_2$ viel weniger giftig sind als die entsprechenden Natriumsalze¹⁾. Auch die Magnesiumsalze dieser Anionen sind weniger giftig als die Natriumsalze. In $\frac{m}{5}$ Na_2SO_4 leben die Fische nur wenige Stunden, in $\frac{m}{5}$ MgSO_4 leben sie eine Woche oder länger. In einer $\frac{m}{10}$ - NaBr -Lösung lebten die Fische nur 2 Tage, in einer $\frac{m}{10}$ - MgBr_2 -Lösung lebten sie 5 Tage.

Diese Tatsachen stützen die Annahme, daß die beiden entgegengesetzten Ionen eines Salzes eine antagonistische Wirkung aufeinander ausüben, was dann besonders deutlich zutage tritt, wenn das Anion relativ giftig ist. Handelt es sich aber

¹⁾ Diese Zeitschr. 39, 194, 1912.

um ein relativ ungiftiges Anion wie Cl , das bereits durch Na hinreichend entgiftet wird, so wird die Giftigkeit von MgCl_2 , CaCl_2 und SrCl_2 , wie wir sehen, durch das Kation bestimmt. In dem Falle ist NaCl weniger giftig als MgCl_2 oder CaCl_2 .

Die zweite Folgerung aus dem Gedanken, daß die Ionen desselben Salzes eine antagonistische Wirkung aufeinander ausüben, würde die sein, daß in den Fällen, in denen das Kation die Giftigkeit bestimmt, die Salze mit mehrwertigem Anion fast ebenso giftig sind wie die Chloride. Das folgt aus der Tatsache, daß die Giftigkeit der Salze mit mehrwertigem Kation nur wenig bzw. gar nicht herabgesetzt wird. Eine Lösung von MgCl_2 tötet die Fische in einer $\frac{m}{5}$ -Lösung meist in 1 oder 2 Tagen. Wie der Vergleich mit der Giftigkeit von NaCl ergibt, muß das Mg -Ion die obere Giftigkeitsgrenze von MgCl_2 bestimmen. Der Zusatz von etwas Na_2SO_4 verringert die Giftigkeit von MgCl_2 , aber nur in geringem Grade. Wir finden nun, daß MgSO_4 etwas weniger giftig für die Fische ist als MgCl_2 . So leben die Fische in einer $\frac{m}{5}$ - MgSO_4 -Lösung ungefähr 1 Woche, während sie in einer $\frac{m}{5}$ - MgCl_2 -Lösung nur 1 bis 2 Tage leben. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß hier der Umstand mit hereinspielt, daß wegen des höheren Grades der elektrolytischen Dissoziation die Konzentration der Magnesiumionen in der MgCl_2 -Lösung höher ist als in der MgSO_4 -Lösung derselben Konzentration.

LiCl_2 , KCl und NH_4Cl sind sehr giftig für die Fische, und die geringe Giftigkeit des Chlorions sowie die Tatsache, daß beispielsweise KCl sich für diese Tiere durch NaCl entgiften läßt, weist darauf hin, daß das Kation in diesen Salzen das giftige Ion ist. Es war von Interesse, zu untersuchen, ob die Salze dieser drei Kationen mit mehrwertigen Anionen weniger giftig sind als ihre Chloride. Das ist aber nicht der Fall, wie Versuche mit den Chloriden und Sulfaten von Kalium, Lithium und Ammonium zeigten.

Wir kommen daher zum Schlusse, daß auch die Ionen desselben Salzes sich gegenseitig antagonisieren und daß die Kationen die Anionen kräftiger zu antagonisieren imstande sind als umgekehrt. Wir müssen also die Frage aufwerfen: Was bedingt diesen irreziproken Charakter des Antagonismus?

Ehe wir diese Frage beantworten können, müssen wir einige Betrachtungen über die Theorie der antagonistischen Salzwirkung vorausschicken.

IV.

Die Idee, daß ein Antagonismus zwischen den Ionen entgegengesetzter Ladung besteht, scheint im Gegensatz zu der früher schon vom Verfasser mitgeteilten Beobachtung zu stehen, daß die Giftwirkung von Anionen nicht nur durch mehrwertige Kationen, sondern auch durch ein bestimmtes Anion, nämlich Cl, verringert werden kann. So konnte der Verfasser zeigen, daß die Giftwirkung von NaBr, NaJ, Na_2SO_4 , essigsaurem Natrium und anderen durch Zusatz von NaCl aufgehoben oder erheblich verringert werden kann¹⁾. Ebenso hatte er schon vorher den Nachweis geliefert, daß auch die Giftwirkung von KCl bei *Fundulus* nicht nur durch CaCl_2 , sondern auch durch NaCl aufgehoben bzw. verringert werden kann²⁾. Hier handelt es sich um Entgiftung durch gleichsinnige Ionen.

Wie soll man es nun verstehen, daß beide Erscheinungen möglich sind, nämlich 1. ein Antagonismus von Ionen mit entgegengesetzter Ladung und 2. ein Antagonismus von Ionen von gleicher Ladung? Der Verfasser vermutet, daß die eigentliche Variable bei den antagonistischen Salzlösungen ein bestimmter Zustand der Kolloide der Oberfläche des Fisches ist.

Versuche, die noch nicht veröffentlicht sind, haben ergeben, daß die normale Haut von *Fundulus* für Wasser sowohl wie für Salze undurchgängig ist. Variiert man die Konzentration des umgebenden Seewassers innerhalb gewisser Grenzen, so ändert sich die Undurchgängigkeit der Membran nicht. Wohl aber ist das der Fall, wenn man diese Grenze überschreitet³⁾. Noch leichter wird diese Änderung hebeigeführt durch Lösungen, die nur ein einziges Salz enthalten. Wir nehmen an, daß die Undurchgängigkeit der Membran daher rührt, daß bestimmte Ionen (nämlich in diesem Falle die des Seewassers) mit gewissen Kolloiden der Haut chemische Verbindungen eingehen und daß der physikalische Charakter dieser Verbindungen die Eigenschaft der Membran bestimmt. Ersetzt man Seewasser durch die Lösung

¹⁾ Loeb, diese Zeitschr. **43**, 181, 1912.

²⁾ Diese Zeitschr. **31**, 450, 1911.

³⁾ Diese Zeitschr. **53**, 391, 1913.

nur eines einzigen Salzes, so ändert sich die Konstitution der Membran und damit ihre Durchgängigkeit. Anionen und Kationen beeinflussen die Membran in entgegengesetztem Sinne, aber wenn der Überschuß von Calciumionen eine gewisse Grenze überschreitet, so zerstört er die Membran ebenso sicher, wie ein Überschuß von beispielsweise Citrationen. Wir sollten nun auf Grund dieser Annahme erwarten, daß eine Mischung von $\text{NaCl} + \text{KCl} + \text{CaCl}_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind, eine starke antagonistische Wirkung gegen die meisten Salze ausübt. Das trifft auch zu. In einer früheren Arbeit habe ich bereits gezeigt, daß das für Salze mit einwertigen Anionen der Fall ist, wie beispielsweise NaBr , NaJ , NaNO_3 , essigsaures Natrium u. a.¹⁾. Es trifft aber auch für Salze wie KCl , LiCl und NH_4Cl zu, in denen das giftige Ion sehr wahrscheinlich das Kation ist. Solche Salze können nun genau wie die Salze von NaNO_3 oder NaBr durch künstliches Seewasser kräftig entgiftet werden. Die folgenden zwei Tabellen zeigen die entgiftende Wirkung von künstlichem Seewasser in verschiedener Konzentration, sowie von CaCl_2 - und NaCl -Lösung. Unter künstlichem Seewasser ist hier die Mischung von $\text{NaCl} + \text{KCl} + \text{CaCl}_2$ verstanden.

Tabelle IV.

Giftige Lösung LiCl . Entgiftende Lösung künstliches Seewasser.
Lebensdauer in Tagen.

Entgiftende Lösung	$\frac{2\text{ m}}{25}$	$\frac{\text{m}}{10}$	$\frac{3\text{ m}}{25}$	$\frac{3\text{ m}}{20}$	$\frac{7\text{ m}}{40}$	$\frac{\text{m}}{5}$ LiCl
0 (Kontrolle)	1	1	0	0	0	0
$\frac{\text{m}}{100}$ künstliches Seewasser	4	2	0	1	0	0
$\frac{\text{m}}{16}$ " "	4	5	2	3	3	1
$\frac{\text{m}}{8}$ " "	5	3	3	1	1	1
$\frac{\text{m}}{4}$ " "	4	2	2	1	1	1
$\frac{3\text{ m}}{8}$ " "	2	2	1	0	0	0

Die entgiftende Wirkung des künstlichen Seewassers ist sehr deutlich. NaCl -Lösungen hatten keine so deutliche entgiftende Wirkungen, wie Tabelle V zeigt.

¹⁾ Diese Zeitschr. 43, 181, 1912.

Tabelle V.
Giftige Lösung LiCl. Entgiftende Lösung NaCl.
Lebensdauer in Tagen.

Entgiftende Lösung	$\frac{2m}{25}$	$\frac{m}{10}$	$\frac{3m}{25}$	$\frac{3m}{20}$	$\frac{7m}{40}$	$\frac{m}{5}$ LiCl
0 (Kontrolle)	0	0	0	0	0	0
$\frac{m}{100}$ NaCl	0	0	0	0	0	0
$\frac{m}{16}$ NaCl	6	2	0	0	0	0
$\frac{m}{8}$ NaCl	4	1	0	0	0	0
$\frac{m}{4}$ NaCl	1	1	1	0	0	0
$\frac{3m}{8}$ NaCl	1	0	0	—	—	—

Calciumchlorid wirkt dagegen ebenso stark entgiftend wie das künstliche Seewasser.

Tabelle VI.
Giftige Lösung LiCl. Entgiftende Lösung CaCl₂.
Lebensdauer in Tagen.

Entgiftende Lösung	$\frac{2m}{25}$	$\frac{m}{10}$	$\frac{3m}{25}$	$\frac{3m}{20}$	$\frac{7m}{40}$	$\frac{m}{5}$ LiCl
0 (Kontrolle)	0	0	0	0	0	0
$\frac{m}{100}$ CaCl ₂	3	3	3	2	3	2
$\frac{m}{16}$ CaCl ₂	3	3	3	3	2	2
$\frac{m}{8}$ CaCl ₂	3	2	0	2	1	1
$\frac{m}{4}$ CaCl ₂	0	0	0	0	0	0

Ähnlich wie CaCl₂ wirken auch MgCl₂ und MgSO₄.

Die Versuche mit NH₄Cl zeigen ebenfalls, daß künstliches Seewasser besser entgiftet, als die Lösung irgendeines anderen Salzes. Hier liegt aber die Komplikation vor, daß die NH₄Cl-Lösungen schwach sauer sind, was es wohl bedingt, daß auch NaCl eine bessere entgiftende Wirkung gegen NH₄Cl hat als gegen LiCl.

Wir sehen also, daß künstliches Seewasser (und zweifellos auch natürliches Seewasser) eine noch viel stärkere entgiftende Wirkung hat als irgendein einzelnes Salz oder Ion. Nur wenn das giftige Salz ein Salz mit mehrwertigem Anion ist, wie Natriumcitrat, mag es vorkommen, daß das Seewasser nicht

ganz so günstig wirkt wie Mg, aber der Unterschied ist nicht sehr groß.

Alle diese Tatsachen lassen sich unter der Annahme verstehen, daß die Salze den Zustand gewisser Kolloide der Haut des Fisches bestimmen. Eine Änderung im einen wie im entgegengesetzten Sinne schädigt die Haut, sobald die Änderung eine gewisse Größe überschreitet. Der Umstand, daß entgegengesetzt geladene Ionen die Kolloide im entgegengesetzten Sinne beeinflussen, erklärt den Antagonismus zwischen Anionen und Kationen. Der Umstand, daß das Optimum der Undurchlässigkeit der Haut dann vorhanden ist, wenn die Fische im normalen Milieu, d. h. in Seewasser sind, läßt sich unter der Annahme verstehen, daß die Salze der umgebenden Lösung mit den Kolloiden an der Oberfläche der Fische chemische Verbindungen eingehen (oder daß sie dieselben in anderer Weise beeinflussen) und daß der spezifische Charakter dieser Verbindungen die physikalische Natur und Eigenschaften der Haut oder ihrer Oberfläche bestimmt. Auf Grund dieser Annahme muß der Ersatz des Seewassers durch eine andere Lösung zu einer chemischen Änderung der Haut und damit zu einer Änderung ihrer physikalischen Eigenschaften, insbesondere zu einer Erhöhung der Durchlässigkeit führen. Für die Erhaltung dieser normalen physikalischen Beschaffenheit ist offenbar irgendeine Wirkung von Ca und Mg auf die Kolloide von besonderer Bedeutung. Nehmen wir an, daß diese Wirkung praktisch irreversibel ist (beispielsweise eine Fällung), während die Wirkung der polyvalenten Anionen reversibel ist, so verstehen wir auch den irreziproken Charakter der antagonistischen Wirkung von Anionen und Kationen, von dem hier die Rede ist.

V.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Es wird gezeigt, daß die Wirkung giftiger Anionen, organischer sowohl wie anorganischer, durch Spuren von zweiwertigen Kationen wie Mg und Ca aufgehoben werden kann.

2. Es wird ferner gezeigt, daß die giftige Wirkung, die Kationen (z. B. Mg, Ca, K, Li, NH_4) in genügend hoher Konzentration ausüben, durch mehrwertige Anionen gar nicht oder nur in verschwindendem Maße verringert werden kann.

3. Es wird damit bewiesen, daß der Antagonismus zwischen Anionen und Kationen irreziprok ist.

5. Es wird gezeigt, daß derselbe irreziproke Antagonismus zwischen den beiden Ionen desselben Salzes besteht, indem beispielsweise die Magnesiumsalze oder Calciumsalze sehr giftiger Anionen (wie z. B. NO_3 , Br, SO_4 , Essigsäure u. a.) bei weitem nicht so giftig sind wie die Natriumsalze derselben Anionen; während beispielsweise die Sulfate giftiger Kationen (wie z. B. K, Li u. a.) gar nicht oder nur wenig besser sind als die Chloride.

5. Es wird eine Theorie dieser Erscheinungen entwickelt.

Über das Verhalten der Eiweißspeicherung in der Leber bei enteraler und parenteraler Zuführung von verschiedenen Eiweißabbauprodukten.

Von

C. E. Cahn-Bronner.

(Aus dem Anatomischen Institut zu Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 21. Juni 1914.)

Die histologische Methodik hat sich seit Heidenhain verschiedentlich auf dem Gebiete der Stoffwechselphysiologie versucht. Ihr Bestreben ist, aus dem histologischen Bilde eines Organes einen Schluß auf seine Funktion zu ziehen.

Speziell bei den Leberzellen konstatierte man — von den Einschlüssen von Fett und Glykogen sei in diesem Zusammenhange abgesehen — Veränderungen der Strukturen von Kern und Protoplasma, die durch die untersuchten Bedingungen hervorgebracht wurden. Man erreichte dadurch eine Illustrierung oder Ergänzung der durch die anderen, hauptsächlich physiologisch-chemischen Methoden gelieferten Ergebnisse, aber keine wesentlich neue allgemeine Erkenntnis. Vor einiger Zeit gelang es W. Berg¹⁾ die histologische Methodik zum Studium der Vorgänge in der Leberzelle, soweit sie deren Eiweißkörper betreffen, in andersartiger Weise anzuwenden. Soweit sie die Grundlage zu meiner Fragestellung bilden, seien diese Resultate kurz angeführt. W. Berg fand in den Leberzellen gut genährter Tiere, und zwar sowohl bei Amphibien wie bei Säugetieren, charakteristische Einschlüsse, die bisher wohl bei niederen Wirbeltieren bisweilen beobachtet, aber in ihrer Bedeutung nicht erkannt worden waren. Es handelt sich um homogene,

¹⁾ W. Berg, Anat. Anz. 42, 251, 1912; Münch. med. Wochenschr. 1912, Heft 2 (Sitzungsber. d. med.-naturwiss. Vereins zu Straßburg i. E.) und 1914, Heft 19, S. 1048/44; diese Zeitschr. 61, 428, 1914.

vielgestaltige Tropfen von *intra vitam* offenbar zähflüssiger Konsistenz, die im Protoplasma der Zellen ohne sichtliche Bevorzugung einer Richtung verteilt sind. Diese bestehen, wie ihr Verhalten den histologischen Prozeduren gegenüber, noch besser der positive Ausfall der Millonschen Reaktion zeigt, aus Eiweiß, und zwar einem solchen, das sich gegenüber den Eiweißkörpern, die das fein strukturierte Protoplasma **zusammen-**setzen, auf Grund früherer Erfahrungen als **different** erweisen läßt. Diese Tropfen verschwinden allmählich beim Hungern; bei halbwüchsigen Kaninchen fehlen sie nach etwa 2 Tagen, bei *Salamandra maculata* — je nach Jahreszeit — nach einigen Wochen oder Monaten. Fütterte man Hungertiere mit Kohlenhydraten oder Fett, so traten die Tropfen nicht auf, wohl aber nach Fütterung von Eiweiß (Casein resp. bei *Salamandra* auch mit Froschmuskeln). Es ließ sich somit allen Forderungen, die die physiologische Chemie bereits im voraus für den exakten Nachweis der Eiweißspeicherung gestellt hatte, genügen. So war die bis dahin vielfach diskutierte Frage, ob das vom Darm aufgenommene Eiweiß direkt den Organen zugeführt und in das Protoplasma ihrer Zellen eingefügt wird, oder ob es intermediär aufgespeichert werden kann, in letzterem Sinne entschieden. Tichmeneff¹⁾ hat den Befund der Eiweißspeicherung in der Leber mittels physiologisch-chemischer Methodik bestätigt und nach der quantitativen Seite hin erweitert.

Bei diesen Ergebnissen schien die histologische Methodik auch geeignet zu sein, zur Frage der Eiweißsynthese einen Beitrag zu liefern. W. Berg und Cahn-Bronner²⁾ zeigten, daß auch nach Fütterung von gänzlich abgebautem Eiweiß (Erepton) Eiweißspeicherung eintritt. Es soll an dieser Stelle noch hervorgehoben werden, daß dieser Nachweis der Eiweißsynthese im Tierkörper aus den Bausteinen an Pflanzenfressern (Kaninchen) geliefert wurde. Es erscheint somit ein früher besonders von Lüthje³⁾ erhobenes Bedenken beseitigt, nämlich daß diesbezügliche, an Fleischfressern erhaltene Resultate nicht ohne weiteres auch auf Pflanzenfresser übertragen werden dürften.

¹⁾ Diese Zeitschr. 59, 1914.

²⁾ W. Berg und Cahn-Bronner, diese Zeitschr. 61, 434, 1914.

³⁾ H. Lüthje, Ergebnisse der Physiologie von Asher-Spiro 7, 795, 1908.

Nachdem diese Tatsachen vorlagen, konnte man mit der vorliegenden Arbeit auf eine etwas speziellere Fragestellung eingehen. Es sollte die Eiweißspeicherung selbst etwas näher untersucht werden. Die Frage war: Wie verhält sich die Eiweißspeicherung bei Darreichung verschiedener Eiweißabbauprodukte?

Es schien dies aus folgenden Gründen von Interesse: Die verschiedenen Eiweißabbauprodukte haben verschiedene physiologische Wirkungen. Wie weit erstrecken sich diese auch auf die Eiweißspeicherung? Gibt es Faktoren, die ihr Zustandekommen verhindern? Und wenn sie eintritt, ist ihr morphologischer Ausdruck immer der gleiche? Zweitens war ein Vergleich zwischen diesen Resultaten und den Angaben in der Literatur über Eiweißsynthese und Verarbeitung der Eiweißspaltprodukte im Organismus möglich. Auch war ein Beitrag zur Frage des Schicksals parenteral zugeführter Eiweißabbauprodukte bei dem augenblicklich widerspruchsvollen Stand der Untersuchungen wünschenswert. Schließlich schienen diese Resultate interessant bezüglich der aktiven Arbeitsleistung der Leberzellen bei der Eiweißspeicherung. Wir wissen ja nicht, ob die Leberzelle lediglich das Aufbewahren der Eiweißstoffe besorgt. Da sie das Eiweiß doch nur aus dem Blute erhalten kann, und es dort schwerlich in der Form, wie es in den Leberzellen auftritt, enthalten ist, so muß wohl die Leberzelle es erst zur Speicherung selbsttätig in eine andere Form überführen, wozu ihrerseits wohl eine Arbeitsleistung nötig ist. Je nachdem man nun eine verschiedene Arbeitsleistung an ihr konstatieren kann oder nicht, könnte man einen Schluß daraus ziehen, ob das Eiweiß bei Fütterung verschiedener Eiweißabbauprodukte in gleicher oder verschiedener Form von der Darmwand ins Blut abgegeben wird. Was aus Literaturangaben hierauf Bezug hat, ist in der Arbeit von W. Berg und mir¹⁾ besprochen.

Es sei an dieser Stelle gestattet, auf einiges Prinzipielle dieser an der Grenze zwischen Anatomie und Physiologie liegenden Methodik hinzuweisen. Es wird dies auch jedenfalls das Verständnis der Resultate erleichtern. Nachdem wir ex-

¹⁾ W. Berg und Cahn-Bronner, l. c.

perimentell an einem Tier den gewünschten Zustand, z. B. Hunger oder Eiweißmast, herbeigeführt haben, gibt uns das mikroskopische Bild eines Organes eine Momentphotographie seines Zustandes im Augenblick der Tötung. Postmortale Veränderungen sind durch die Schnelligkeit der Operationen auszuschließen. Sehr oft läßt bereits der reine morphologische Ausdruck eines Stoffwechselvorganges vieles von dem Vorgang selbst erkennen. Über die chemische Natur der vorliegenden Stoffe gibt die Anwendung passender Reaktionen Aufschluß; manche Farbenreaktionen gestatten noch den Nachweis außerordentlich geringer Mengen; ich erinnere nur an den Eisennachweis als Berlinerblau. Quantitative Resultate sind naturgemäß nicht zu erreichen, also auch nicht die analytisch-chemische Charakterisierung eines Stoffes. Doch muß betont werden, daß hier die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Stoffe zu ihrer näheren Charakterisierung sehr wohl geeignet sein können, und daß hierfür die oft wenig beachteten Untersuchungen über die Theorie der komplizierten Vorgänge in der histologischen Methodik, wie z. B. Fixierungen und Färbungen, gute Dienste leisten können. Gelingt so mehr oder weniger ein Einblick in die Funktion der Zelle, so kommt man weiter durch Aneinanderreihung verschiedener solcher Momentphotographien, z. B. beim Stoffwechselversuche, indem man zu verschiedenen Zeitpunkten nach der letzteren Fütterung tötet. Bei zweifelhaften Resultaten genügen oft kleine Veränderungen in den Versuchsbedingungen, um zu einwandfreien Versuchsergebnissen zu kommen. Besonders hervorzuheben ist zum Schluß, daß bei der außerordentlichen Empfindlichkeit mancher Zellstrukturen kein Resultat ohne Bestätigungen durch Kontrollversuche als gesichert angesehen werden darf. Aus dem Gesagten erhellt, daß eine Kombination von histologisch- und chemisch-physiologischer Methodik bei ein und demselben Versuche anzustreben ist.

Da die allgemeine, die vorliegenden Fragen berührende Literatur bereits an anderer Stelle diskutiert ist¹⁾, kann ich mich darauf beschränken, Spezielles bei der Besprechung der einzelnen Versuche anzuführen und gleich zur Angabe der Versuchsanordnung übergehen.

¹⁾ W. Berg und Cahn-Bronner, l. c.

Versuchsanordnung.

Als Versuchstiere dienten wieder *Salamandra maculata*. Es wurden ausschließlich Tiere verwendet, die mindestens 4 Monate gehungert hatten. Während dieser Periode wurde durch Tötung der Hungertiere von Zeit zu Zeit die Entleerung der Leber von Reservematerial kontrolliert; schon im 3. Monat erwies sich die Leber als leer. Es wurde immer vermieden, durch Exstirpation kleiner Leberstücke am Versuchstiere selbst sich über den Zustand der Leber zu vergewissern, wie es z. B. Kusmine¹⁾ machte. Wir fürchteten, wegen der Empfindlichkeit der Zellstrukturen nach diesem Eingriff keine einwandfreien Resultate mehr zu erhalten. Da man von diesen kleinen Tieren leicht genügend Kontrolltiere halten kann, gelingt es auch ohne dieses Mittel, völlige Sicherheit über den gewünschten Ausgangszustand der Leber für den Versuch zu erreichen. Die Eiweißabbauprodukte wurden nie allein verfüttert, sondern immer mit Kohlenhydraten zusammen, um die Darmschädigung herabzusetzen. Dazu verwandten wir ausschließlich reines Glykogen. Es hatte sich dies als technisches Hilfsmittel bei der Ereptonfütterung gut bewährt, und es wurde ausführlich gezeigt²⁾, daß der Zusatz von Glykogen für die Frage der Eiweißspeicherung nur insofern von Bedeutung ist, als es eine Speicherung von Nahrungsstoffen überhaupt, da es dem Organismus große Mengen von Calorien zuführt, bei den ausgehungerten Tieren erleichtert. Gemischt mit diesem Glykogen wurden die Eiweißabbauprodukte in Pillenform den Tieren in den Rachen geschoben und so der Schluckakt ausgelöst. Die Tötung erfolgte durch Dekapitation zu verschiedenen Zeiten nach der letzten Fütterung. Die Leber wurde möglichst schnell herausgenommen und in kleinen Stücken, die man verschiedenen Teilen der Leber entnahm, in Alkohol, Formalin, Formalin Zencker und Ciaccio fixiert, in aufsteigendem Alkohol gehärtet, in Celloidinparaffin eingebettet und meist mit Methylgrünpyronin gefärbt. Bei genau übereinstimmenden Versuchen begnügten wir uns mit 2 Tieren pro Versuch.

¹⁾ Kusmine, Zeitschr. f. Biol. 46, 1905.

²⁾ W. Berg, l. c.

Es sollen zuerst die Fütterungsversuche, dann die Injektionsversuche besprochen werden. Eiweißspeicherung nach Fütterung von genuinem Eiweiß und einem Aminosäurengemisch lag vor. Es wurden fünf dazwischen stehende Präparate untersucht.

Versuche mit Witte-Pepton.

Als höchst-molekulares Eiweißspaltprodukt wählten wir Witte-Pepton. Trotz seiner inkonstanten Zusammensetzung wird es von den Autoren mit Vorliebe benutzt, da es leicht zu erhalten ist. Was die vorzugsweise von dem käuflichen Pepsinpräparate stammenden Verunreinigungen betrifft, so zeigte Popielsky¹⁾ in eigens darauf gerichteten Versuchen mit reinem Witte-Pepton, das die physiologischen Wirkungen von diesen Verunreinigungen unbeeinflusst sind. — Ein Salamander von 20 g bekam an zwei aufeinander folgenden Tagen je 0,05 g Witte-Pepton und 0,025 g Glykogen und wurde 22 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Ein zweiter bekam 4 Tage lang täglich die gleiche Menge, wobei zwischen dem 2. und 3. Fütterungstage 1 Tag Pause eingefügt wurde. Dieses Tier wurde 6 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Irgendwelche Krankheitserscheinungen, wie Erbrechen oder Durchfall, traten nicht auf. Makroskopisch war die Leber besonders bei dem 1. Tier auffallend groß. Mikroskopisch war zu meinem Erstaunen von Eiweißspeicherung nichts zu sehen. Es fand sich nirgends ein homogener, roter Tropfen, weder am Kern noch sonst im Protoplasma, noch in der Umgebung der Gallencapillaren. Nach den Berichten von Böhm²⁾ und auch von Kusmine³⁾, die nach Witte-Pepton-Darreichung ein, ihrer Ansicht nach, typisches Leberzellenbild bekamen, war das Auftreten einer Eiweißspeicherung zu erwarten gewesen. Was die eben genannten Autoren betrifft, so beschränkten sich beide auf eine allgemeine Beschreibung der Leberzellen nach Größe und Abgrenzung der Zelle gegen die Nachbarzelle, Dichte und Anordnung des Protoplasmas, nach Lage, Größe und Aussehen des Kernes. Es ist dabei zu bedenken, daß gerade diese Verhältnisse in größerem Maße von dem Ernährungszustand der

¹⁾ Popielsky, Arch. f. d. ges. Physiol. **126**, 483, 1909.

²⁾ Böhm, Zeitschr. f. Biol. **51**, 1908.

³⁾ Kusmine, Zeitschr. f. Biol. **46**, 1905.

Leber vor dem Versuche abhängen, als von der einmaligen oder kurzdauernden Fütterung im Experiment. Bei allen Versuchen über Eiweißspeicherung in den Leberzellen von Berg und mir zeigte sich, daß für die Größe der Zelle und die Dichte und Anordnung des Protoplasmas nur in geringem Maße die Eiweißspeicherung, vielmehr der Ernährungszustand der Zelle vor dem Versuche insbesondere die Menge der sonstigen Reservestoffe maßgebend ist, und daß wir bei Fütterungen gleicher Mengen, einmal Speicherung in sehr kleinen, deutlich voneinander abgegrenzten Zellen, das andere Mal eine ebenso starke Speicherung in großen Zellen mit weitmaschigem Protoplasma fanden, je nachdem, wie lange das Tier vorher gehungert hatte, und wieviel Kohlenhydrate wir neben dem Eiweiß verfütterten. Kusmine¹⁾ selbst hebt einen auffallenden Unterschied im Leberbilde des einen Hungertieres, das sie untersuchte, gegenüber den anderen Tieren hervor. Doch zeigte sich auch in unsern Versuchen nach Witte-Pepton-Fütterung ein ganz charakteristisches Bild, wie wir es bisher nicht gefunden hatten, und zwar bei beiden Tieren durchaus gleichmäßig. Ein bei allen andern Bildern nach Fütterung von Eiweiß und Eiweißspaltprodukten konstanter Befund war die Lagerung des Chromatins im Kern; es war in einzelnen Klumpen im Innern des Kernes angehäuft und lag außerdem in kleineren, meist dicht gelagerten Klumpen der Kernmembran auf der Innenfläche an. In Präparaten, die von Witte-Pepton-Tieren stammten, war das periphere Chromatin meist in Gestalt feiner Stäubchen im Kerne verteilt, die gegen die Peripherie zu dichter gelagert waren. Ich bin nicht imstande eine funktionelle Deutung dieses Bildes zu geben. Ich will nur in diesem Zusammenhang auf einige Angaben in der Literatur hinweisen, die gerade nach Witte-Pepton-Fütterung eine besondere Funktion der Leberzelle wahrscheinlich machen. Pletnew²⁾ findet dabei eine Herabsetzung der Zuckerassimilationsgrenze. Der Grund kann zweierlei sein, eine anderweitige Beanspruchung oder eine Schädigung der Leberzelle. Übereinstimmend damit konstatiert Tschannen³⁾, daß die Leber nach Witte-Pepton-Fütterung fast ganz glykogenfrei wird.

¹⁾ Kusmine, l. c.

²⁾ Pletnew, diese Zeitschr. 21.

³⁾ Tschannen, diese Zeitschr. 59, 1914.

Um sich zu vergewissern, daß das Ausbleiben der Eiweißspeicherungen nach Witte-Pepton-Fütterung durch eine Veränderung der Leberfunktion bedingt ist, war zu zeigen, daß nicht ein Fehlen von zur Eiweißsynthese nötigen Bausteinen daran schuld war. Abgesehen davon, daß ja Eiweißspeicherung auch nach Fütterung mit gänzlich abgebautem Eiweiß auftritt, ließ sich direkt beweisen, daß im Witte-Pepton alle zur Synthese nötigen Stoffe vorhanden sind. Denn nach Wegnahme einiger seiner Bestandteile ließ sich ein Präparat gewinnen, das, trotzdem es nur ein Teilstück des Albumosen- und Peptongemisches im Witte-Pepton darstellte, zur Eiweißspeicherung in der Leber führte.

Versuche mit dem alkoholunlöslichen Teil des Witte-Peptons.

Aus einer fast 10⁰/₀igen Lösung von Witte-Pepton, die heiß hergestellt war, wurde nach dem Abkühlen mit der gleichen Menge 96⁰/₀igen Alkohols ein Teil des Witte-Peptons wieder ausgefällt, absitzen gelassen über 24 Stunden, dann filtriert, auf dem Filter gewaschen und auf dem Wasserbad getrocknet; ebenso wurde das Filtrat bei 100⁰ eingedampft und getrocknet. Aus den Arbeiten Pick's¹⁾ wissen wir Genaueres über die Zusammensetzung des Witte-Peptons. Danach stellt unser alkohollösliches Präparat im wesentlichen die Protalbumose, das alkoholunlösliche die Heteroalbumose dar. Es lag gar nicht in unserer Absicht, die Prot- und Heteroalbumose rein darzustellen. Sie wurden nicht einmal vor der Alkoholfällung mit Ammonsulfat von den übrigen Beimischungen befreit²⁾. Wir wollten nur versuchen, ein Teilstück aus dem Witte-Pepton herauszunehmen, das imstande wäre, Eiweißspeicherung in der Leber hervorzurufen. Ein Salamander bekam an drei aufeinander folgenden Tagen je 0,05 g dieses durch Alkoholfällung aus

¹⁾ Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 219, 1899; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 481, 1902.

²⁾ Sollte trotzdem eine nähere Charakteristik der verfütterten Stoffe erwünscht sein, so soll andeutungsweise darauf hingewiesen werden, daß von den bekannten Bestandteilen des Witte-Peptons nach den Angaben von Pick bei der Heteroalbumosenfraktion die Thioalbumose und Glykoalbumose und dazu die Fraktion B 1, bei der Protalbumosenfraktion der alkohollösliche Teil der Fraktion A die Fraktion B 3 und fast die ganze Fraktion C war.

Witte-Pepton erhaltenen Präparates und 0,025 g Glykogen und wurde 8 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Ein 2. Tier bekam dieselbe Menge täglich durch 6 Tage, wobei zwischen der 4. und 5. Fütterung 1 Tag Pause eingeschaltet wurde; es wurde 9 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Das Tier machte im Verlauf des Versuches einen durchaus gesunden Eindruck. Makroskopisch war besonders bei dem 2. Tier die Leber auffallend groß (1 g gegen 0,6 g in der Norm bei Hungertieren dieses Stadiums). Mikroskopisch zeigten sich reichlich rote homogene Tropfen, mit Vorliebe mit breiter Basis dem Kerne ansitzend und spitz wie abtropfend in die Zelle hinein auslaufend, auch sonst überall im Protoplasma verteilt. Ich habe davon Abstand genommen, das Bild zu reproduzieren, da es in allen Punkten den früher veröffentlichten Bildern nach Ereptonfütterung gleicht und von diesen überhaupt nicht unterschieden werden kann. Es ist also damit der Beweis gebracht, daß im Witte-Pepton die zur Eiweißsynthese nötigen Bausteine alle vorhanden sind, und daß das Ausbleiben der Eiweißspeicherung einen andern Grund haben muß. Aus den Arbeiten Popielskys¹⁾ erfahren wir Genaueres über die physiologische Wirkung des Witte-Peptons und über den dabei wirksamen Stoff. Popielsky führt den ganzen Komplex der durch Witte-Pepton hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen zurück auf eine primäre Gefäßerweiterung; die so bedingte Blutdrucksenkung führt zur Gehirnanämie, wodurch eine Reizung bestimmter Zentren stattfinden soll. Eine Veränderung des Blutes selbst tritt dabei offenbar nicht ein. Die giftige Substanz selbst, der er den Namen Vasodilatin gibt, soll ein Verdauungsprodukt des Eiweißes sein, das gleichzeitig mit den Albumosen und Peptonen entsteht und in hohem Grade mit diesen verwandt ist. Es ist in Alkohol löslich, zwar nicht vollständig, doch reichert es sich im Alkohol an. Wir haben also in unserem alkoholunlöslichen Anteil des Witte-Peptons einen vasodilatinarmen, im alkohollöslichen Teil ein vasodilatinreiches Präparat vor uns. Ist nun das Vasodilatin für das Ausbleiben der Eiweißspeicherung anzuschuldigen? Zur Entscheidung dieser Frage verfütterten wir das vasodilatinreiche Präparat.

¹⁾ Popielsky, Arch. f. d. ges. Physiol. 126, 1909.

Versuche mit dem alkohollöslichen Teil des Witte-Peptons.

Ein Salamander bekam an zwei aufeinander folgenden Tagen je 0,05 g des alkohollöslichen Anteils des Witte-Peptons und 0,05 g Glykogen und wurde 25 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Ein 2. Tier bekam dieselbe Menge 2 Tage lang, und, da die Ration zu groß bemessen war, noch 4 Tage lang je 0,05 g des alkohollöslichen Teiles des Witte-Peptons mit nur 0,025 g Glykogen. Zwischen der 3. und 4. Fütterung lag ein Ruhetag. Bei dem letzten Tiere war bei der Sektion eine auffallend starke Injektion der Blutgefäße besonders am Enddarm zu bemerken. Bei beiden Tieren war von Eiweißspeicherung keine Spur zu sehen. Die Leberzellen unterschieden sich nicht von denen eines Hungertieres. Das periphere Chromatin lag der Kernwand wie gewöhnlich an. Das vasodilatinreiche Präparat führte also nicht zur Eiweißspeicherung, aber auch nicht zu dem für Witte-Pepton charakteristischen Bilde. Wir wissen also bisher soviel, daß möglicherweise der Einfluß des Vasodilats das Zustandekommen der Eiweißspeicherung verhindert, aber nicht für das beschriebene Phänomen am Kern verantwortlich gemacht werden kann. Ich breche an dieser Stelle mit dieser Überlegung ab und komme später bei der Besprechung der Injektionsversuche noch einmal darauf zurück.

Um nun noch eine Zwischenstufe zwischen Witte-Pepton und Errepton einzuschalten, stellte ich noch 2 Versuchsreihen mit Pepton e carne siccum an. Dies Präparat, das aus Fleisch durch Trypsinverdauung gewonnen wird, stellte uns die Firma E. Merck in Darmstadt in dankenswerter Weise zur Verfügung.

Versuch mit Pepton e carne.

Ein Salamander bekam an drei aufeinander folgenden Tagen je 0,05 g Pepton e carne und 0,02 g Glykogen und wurde 6 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Ein 2. Tier bekam täglich dieselbe Menge 2 Tage lang und dann, da die Tagesration etwas zu groß war, noch weiter 4 Tage lang je 0,05 g Pepton e carne und nur 0,01 g Glykogen, wobei nach der 4. Fütterung 1 Tag Pause eingeschoben wurde. 24 Stunden nach der letzten Fütterung wurde das Tier getötet. Bei beiden Salamandern fand sich das typische Bild der Eiweißspeicherung,

die Tropfen waren in reichem Maße vorhanden. Konnte man beim Witte-Pepton, beeinflusst durch die Literaturangaben, glauben, daß die Eiweißspeicherung ausblieb, weil die Leberzellen eine besondere gegenüber der normalen gesteigerte synthetische Arbeitsleistung zu verrichten hätten, so schien dies wegen des Auftretens der Eiweißspeicherung nach Fütterung eines Teilstückes des Witte-Peptons schon unwahrscheinlich und um so mehr jetzt bei dem Eintreten der Eiweißspeicherung nach Fütterung von Pepton e carne; denn einmal ist hierbei eine etwaige synthetische Arbeitsleistung der Leberzelle zum mindesten ebenso groß wie nach Witte-Pepton-Fütterung. Dann aber haben wir bei Peptonfütterung einen direkten Nachweis für eine besondere Tätigkeit der Leberzelle. A. Loeb¹⁾ zeigte, daß hierbei eine starke Zunahme der Gallensekretion auftritt und bezieht dies gerade auf eine Beteiligung der Leberzelle am Eiweißstoffwechsel, wo die Galle die stickstofffreien Abfallsprodukte darstelle. Trotzdem ist also hier Eiweißspeicherung vorhanden. Zu bemerken ist, daß Lesser²⁾ bei Fütterung tryptischer Verdauungsprodukte keine positive Stickstoffbilanz bekam, während dies L. Blum³⁾, Ellinger⁴⁾, Maly⁵⁾ und Plosz und Gyergyai⁶⁾ gelang.

Versuche mit dem alkohollöslichen Teil des Peptons e carne.

Da das Pepton e carne in Alkohol nicht vollständig löslich war, so füllte ich den unlöslichen Teil aus einer wässrigen 7 %igen Lösung mit dem dreifachen Volumen absoluten Alkohols aus. Es fiel ein geringer klebriger, der Glaswand nach 24 Stunden anhaftender Niederschlag aus. Mit dem Filtrat stellte ich eine Versuchsreihe an. Ein Salamander bekam an 4 aufeinander folgenden Tagen je 0,05 g des alkohollöslichen Teiles des Pepton e carne und 0,01 g Glykogen und wurde 9 Stunden nach der letzten Fütterung getötet. Ein zweiter bekam dieselbe Menge an 5 aufeinander folgenden Tagen und wurde 24 Stunden nach der letzten Fütterung ge-

¹⁾ A. Loeb, Zeitschr. f. Biol. 55, 1911.

²⁾ Lesser, Zeitschr. f. Biol. 45, 1904.

³⁾ L. Blum, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 15, 1900.

⁴⁾ Ellinger, Zeitschr. f. Biol. 15, 201, 1896.

⁵⁾ Maly, Arch. f. d. ges. Physiol. 9, 585, 1874.

⁶⁾ Plosz und Gyergyai, Arch. f. d. ges. Physiol. 10, 536, 1875.

tötet. Bei beiden Tieren war Eiweißspeicherung, wie zu erwarten, vorhanden.

Injektionsversuche.

Es schien nun von besonderem Interesse, zu sehen, ob sich auch auf dem Wege parenteraler Ernährung Eiweißspeicherung in der Leber erreichen lasse. Aus der reichhaltigen einschlägigen Literatur sei nur auf die Arbeiten von Heilner¹⁾, Leonor Michaelis und Peter Rona²⁾, Kornel v. Körösy³⁾ und dann von Hofmeister⁴⁾, Abderhalden und London⁵⁾, Ernst Freund und Hugo Popper⁶⁾ hingewiesen. Es wurden injiziert Witte-Pepton, der alkoholunlösliche Bestandteil des Witte-Peptons und Erepton.

Injektionsversuch mit Witte-Pepton.

Die Injektionen erfolgten intraperitoneal und zwar immer in einem Male die ganze Menge. Einem Salamander wurden am 1. Tage 0,3 g Witte-Pepton in 3 % iger Rohrzuckerlösung injiziert (das ist, in der gewöhnlichen Weise ausgedrückt, die beträchtliche Menge von ca. 15 g pro kg Tier) und am 2. Tage, da das Tier sich auffallend wohl befand, 10 g pro kg Tier; 12 Stunden darauf wurde es getötet. Von Eiweißspeicherung war in der Leber nichts zu sehen, doch fand sich das für Witte-Pepton oben beschriebene Bild der Zerstäubung des Chromatins in feine Körnchen, die gegen die Peripherie des Kernes zu dichter gelagert waren. Es ist interessant, daß dieses für Witte-Pepton charakteristische Bild sowohl nach Fütterung wie nach Injektion auftritt. Es ist gerade bei den Versuchen mit Witte-Pepton auffällig, daß auch in der Literatur die Versuchsergebnisse bei enteraler und parenteraler Zuführung die gleichen sind. Aus diesem Grunde auch konnte ich bei der Besprechung der Versuche mit Witte-Pepton-Fütterung bereits Resultate, die

¹⁾ Heilner, Zeitschr. f. Biol. 50, 26, 1907.

²⁾ Leonor Michaelis und Peter Rona, Arch. f. d. ges. Physiol. 121, 103, 1908.

³⁾ Kornel v. Körösy, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 1909; 69, 1910.

⁴⁾ Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. 5, 125, 1881.

⁵⁾ Abderhalden und London, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 237, 1909.

⁶⁾ Ernst Freund und Hugo Popper, diese Zeitschr. 15, 272, 1908.

nach Injektionen beobachtet wurden, anführen. So fanden Böhm¹⁾ nach Fütterung und Kusmine²⁾ nach Injektion jedesmal die Leberzellen in bestimmter Weise verändert, die sie ähnlich beschreiben. Ein ähnliches Verhalten des Organismus und speziell der Leber geht ferner hervor aus Injektionsversuchen von Asher und Barbéra³⁾ und Fütterungsversuchen von Popielsky⁴⁾. Tatsächlich fand nun Nolf in einer großen Reihe von Versuchen, daß Witte-Pepton oder Teile desselben als solche, ohne vorherige weitere Spaltung, von der Darmwand resorbiert werden und ins Blut gelangen; er schloß dies einmal aus der Resorptionsgeschwindigkeit und dann aus eigens dazu angestellten Versuchen, die gleiche physiologische Wirkungen des Witte-Peptons auf das Blut nach Injektion und Fütterung zeigten. Braucht man nun nicht gerade mit Nolf anzunehmen, daß normalerweise das Witte-Pepton als solches resorbiert wird, da seine Versuchsbedingungen keine normalen sind, so muß man doch wohl annehmen, daß der Darm imstande ist, auch größere Komplexe, und nicht nur die einfachsten Bausteine des Eiweiß aufzunehmen⁵⁾.

Ich komme an dieser Stelle noch einmal auf die Resultate bei Verfütterung des vasodilatinreichen und -armen Teiles des Witte-Peptons zurück. Wir haben inzwischen vom positiven Ausfall der Eiweißspeicherung bei den Versuchen mit Pepton e carne gehört. Früher wurde dasselbe von Ereptonversuchen berichtet. Nun wissen wir von E. Zunz⁶⁾, daß das Vasodilatin

¹⁾ Böhm, Zeitschr. f. Biol. 51, 1908.

²⁾ Kusmine, Zeitschr. f. Biol. 46, 1905.

³⁾ Asher und Barbéra, Zeitschr. f. Biol. 18, 1897.

⁴⁾ Popielsky, Arch. f. d. ges. Physiol. 126, 1909.

⁵⁾ Hierzu vergleiche: Abderhalden und Samuely, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 193, 1905. — Abderhalden, Finck und London, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 272, 1907.

Ferner: Embden und Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 120, 1903. — Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 373, 1903. — Bergmann und Langstein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 27, 1905. — F. Kraus, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 3, 1906. — Borchard, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 517.

Dagegen: Abderhalden und Oppenheimer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 155, 1904. — Morawitz und Dietschy, Arch. f. experim. Pathol. u. Ther. 54, 88, 1906.

⁶⁾ E. Zunz, Arch. internationale d. Physiol. 11, 73, 1911.

auch in den tiefen Verdauungsprodukten des Eiweißes, sogar noch in den abiureten wie Erepton vorhanden ist. Wir können also behaupten, daß das Ausbleiben der Eiweißspeicherung nicht durch das Vasodilatin bedingt ist. Dagegen haben Pick und Spiro¹⁾ im Witte-Pepton einen Körper nachgewiesen, an dessen Gegenwart sich ganz bestimmte physiologische Wirkungen knüpfen. Sie haben ihn als Peptocym bezeichnet. Sie betonen von vornherein, daß dieses kein einheitlicher Stoff zu sein braucht, sondern daß es sich bei der Peptocymwirkung „wahrscheinlich um eine Summation der Vergiftungsbilder mehrerer wirksamer Agenzien handelt“. Sollte dieses Peptocym vielleicht das Ausbleiben der Eiweißspeicherung irgendwie verschuldet haben? Das ist mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit zu bejahen. Denn:

1. Es beziehen sich die Peptocymwirkungen auf Änderungen der chemischen Beschaffenheit des Blutes: Gerinnungshemmung, Veränderungen des Trockengehaltes des Blutes, Verminderung der Blutalkalescenz, usf. Wir wissen aber, daß die Leberfunktionen durch Veränderung des Blutes stark beeinflußt werden, und daß besonders die Gallensekretion mit dem Blute in engstem Zusammenhang steht (z. B. hämolytischer Ikterus). Wo wir also von einer Veränderung des Blutes hören, haben wir auch mit einer Änderung der Leberfunktionen (z. B. im Sinne einer Reizung der Leber) zu rechnen. Einen direkten Nachweis haben wir für unsern Fall in den schon erwähnten Versuchen von Asher und Barbéra²⁾. Es liegt also nahe, das Ausbleiben der Eiweißspeicherung auf eine Veränderung der Leberfunktionen im Sinne einer Peptocymwirkung zu beziehen.

2. Der alkohollösliche Teil des Witte-Peptons führte zur Eiweißspeicherung. Wir wissen aus den Versuchen von Pick und Spiro, daß die Alkoholbehandlung die Peptocymwirkung zum Verschwinden bringen kann. Daß mit dem alkohollöslichen Teil des Witte-Peptons eine Eiweißspeicherung nicht zu erhalten war, möchte ich dahin deuten, daß in dieser Fraktion nicht alle Bausteine zur vorhergehenden Synthese vorhanden waren; An-

¹⁾ Pick und Spiro, Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 235, 1900/01.

²⁾ Asher und Barbéra, Zeitschr. f. Biol. **18**, 1897.

haltungspunkte dafür finden sich bei Pick¹⁾. Dafür spricht auch der histologische Befund: es sahen die Zellen wie Hungerzellen aus und die Zerstäubung des Chromatins fehlte bei beiden Tieren. Es spricht dies letztere also in keiner Weise gegen die Annahme, daß eine Peptocymwirkung das Ausbleiben der Eiweißspeicherung verursacht hat.

3. Bei den Pepton-e-carne-Tieren tritt Eiweißspeicherung auf. Pick und Spiro zeigten in Übereinstimmung mit älteren Angaben, daß die tryptischen Verdauungsprodukte der Eiweißkörper keine Peptocymwirkung mehr besitzen²⁾.

4. Das Auftreten der Zerstäubung des Chromatins nach Witte-Pepton-Injektion gestattet uns, übereinstimmend mit den angeführten Versuchen von Nolf u. a. (vgl. auch Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem. 1914, S. 493), von einer Peptocymwirkung nach Fütterung wie nach Injektion zu sprechen, wobei natürlich nicht gesagt sein soll, daß in beiden Fällen die Peptocymwirkung in allen Punkten die gleiche sein muß.

Es sprechen also alle Versuche in gleichem Sinne für die Annahme, daß die Peptocymwirkung, aufgefaßt als eine Summe von Vergiftungserscheinungen, die sich u. a. auf Veränderungen des Blutes erstrecken, die Eiweißspeicherung nach Darreichung von Witte-Pepton verhindert.

Injektionsversuche mit dem alkoholunlöslichen Teil des Witte-Peptons und Erepton.

Die anderen Injektionsversuche lieferten alle ein negatives Resultat. Es ließ sich nirgends Eiweißspeicherung nachweisen. Dies war um so auffallender, als die Kaltblüter mit ihrem trägen Stoffwechsel die Injektion relativ gut vertrugen. Es sollen die Versuche trotzdem kurz angegeben werden.

Einem Salamander wurden von dem alkoholunlöslichen Teil des Witte-Peptons in 3⁰/₀iger Rohrzuckerlösung am 1. Tage 5 g pro Kilogramm Tier, am 2. Tage 3,25 g, 4 Stunden darauf 2,5 g pro Kilogramm Tier injiziert; 4 Stunden darauf wird er getötet. Das vorher sehr matte Hungertier schien sich in der Versuchszeit zu erholen, trotzdem war von Eiweißspeicherung

¹⁾ Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 219, 1899.

²⁾ Pepton e carne ist nach Angabe der Fabrik durch tryptische Verdauung hergestellt.

nichts zu finden. Zwei Salamandern wurde Erepton injiziert. Erepton ist fermentativ gänzlich abgebautes Eiweiß, daß die Höchster Farbwerke in den Handel bringen; unser Präparat war vollständig biuretfrei und gab mit Phosphorwolframsäure nur eine ganz geringe Trübung. Mit solchem Erepton haben Henriques und Hendersen¹⁾ durch Einträufeln in die Vena jugularis bei einem Ziegenbock Stickstoffretentionen erhalten. Ich injizierte einem Tier nach Glykogenfütterung am 1. Tage 2,5 g Erepton, am 2. Tage 1,25 g pro Kilogramm Tier, wozu es wieder 0,05 g Glykogen per os bekam. Ein zweites Tier bekam in 3%iger Rohrzuckerlösung 15 g Erepton pro Kilogramm Tier auf einmal. Bei beiden Tieren fand sich das Bild einer Hungerleber. Trotz dieser negativen Resultate sind wir nicht von der Unmöglichkeit, durch parenterale Zuführung Eiweißspeicherung hervorzurufen, überzeugt. Wir glauben vielmehr, daß hierfür die Kaltblüter ein ungeeignetes Material sind, daß vielleicht auch in der Methodik selbst die Ursache des negativen Resultats liegt. Aus den Arbeiten von Zunz²⁾ ist deutlich zu sehen, wie einmal geringfügige Änderungen in den Versuchsbedingungen und dann das Experimentieren an verschiedenen Tierarten zu ganz verschiedenen Resultaten führt. Es sollen also diese Versuche an Warmblütern wieder aufgenommen werden.

Anhangsweise ist noch ein Versuch zu erwähnen, der für die Deutung der Funktion der Leberzellen von Bedeutung sein könnte. Es wurde Ammoncitrat, und zwar täglich 0,1 bis 0,2 g zusammen mit Kohlenhydraten, an zwei Tiere verfüttert. Grafe und Schläpfer³⁾ teilen ja mit, daß es ihnen gelungen sei, mit diesen beiden Stoffen positive Stickstoffbilanz zu erzielen. Eiweißspeicherung trat in unseren Versuchen bei keinem Tier auf. Es waren überhaupt an den Leberzellen keine Veränderungen gegenüber dem Hungerzustand zu sehen.

Es ist einmal von berufener Seite der Einwand gemacht worden, es könnten vielleicht die Eiweißstoffe durch irgendeine Reizwirkung, etwa auf die Darmwand, die Bildung der homogenen Tropfen in den Leberzellen hervorrufen, so daß dieser

¹⁾ Henriques und Hendersen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 88.

²⁾ Zunz, Arch. internat. d. Physiol. 11, 73, 1911.

³⁾ Grafe und Schläpfer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 77, 1, 1912.

Vorgang als Sekretionserscheinung der Leberzellen aufzufassen sei. Bei der Verfütterung von Ammoncitrat trat eine Darmreizung durch stickstoffhaltiges Material, wie die Sektion zeigte, auf. Der Reiz war aber bezüglich der Bildung homogener Tropfen in den Leberzellen unwirksam. Dieses negative Resultat gewinnt dadurch an Bedeutung, daß es W. Berg in noch nicht veröffentlichten Untersuchungen gelang, histologische Phänomene der Sekretion in den Leberzellen durch Verfütterung von Galle, gallensauren und ölsauren Salzen, sowie von Neutralfett hervorzurufen. Diese bestanden darin, daß die in den Balken des Protoplasmas der Leberzellen eingelagerten, beim Salamander meist stäbchenförmigen Chondriosomen (Mitochondrien) verquollen, miteinander zerflossen, vakuolisiert und in die Gallencapillaren abgeführt wurden, so daß mitochondrienhaltige, -arme und -leere Zellen nebeneinander zu finden waren. Dergleichen Erscheinungen waren nach Verfütterung von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten sowie von Kohlenhydraten nicht zu konstatieren, so daß es sehr unwahrscheinlich scheint, daß die Vorgänge bei der Bildung der homogenen Tropfen und bei gesteigerter Produktion der Galle in derselben Weise, d. h. erstere als Sekretionserscheinungen, aufzufassen sind.

Zusammenfassung.

Die Versuche haben also folgendes ergeben:

1. Die Verfütterung verschiedener Eiweißabbauprodukte kann zur Eiweißspeicherung in der Leber führen, so der alkohol-unlösliche Teil des Witte-Peptons, das Pepton e carne und der alkohollösliche Anteil des Pepton e carne.
2. Es gibt Faktoren, welche die Eiweißspeicherung in den Leberzellen verhindern können, auch wenn alle nötigen Bausteine zur Synthese vorhanden sind. Die Annahme, daß im Witte-Pepton ein solcher Faktor in der Peptocymwirkung auf das Blut und so indirekt auf die Leber zu sehen ist, ließ sich durch Versuche wahrscheinlich machen. Prinzipiell wichtig ist, daß man aus einem Eiweißkörper, der keine Eiweißspeicherung hervorrufen konnte, durch Wegnahme einiger Bestandteile einen Eiweißkörper gewann, mit dem sich Eiweißspeicherung herbeiführen ließ.
3. Wenn die Eiweißspeicherung auftritt, so ist ihr morpho-

logisches Verhalten immer das gleiche, so daß man den Bildern nicht ansehen kann, mit welchem Eiweißabbauprodukt das betreffende Tier gefüttert wurde.

4. Bei parenteraler Zufuhr gelang es bisher in keinem Falle, Eiweißspeicherung in der Leber hervorzurufen.

5. Es zeigt sich nirgends ein Hinweis auf irgendeine veränderte Arbeitsleistung der Leberzelle bei Verfütterung von verschiedenen Eiweißabbauprodukten. An dem Aussehen der Mitochondrien der Leberzelle, welche die empfindlichsten Protoplasmastrukturen sind, erkennen wir oft besondere, in der Leberzelle sich abspielende Vorgänge (Näheres darüber in demnächst zu veröffentlichenden Versuchen von W. Berg). In den mit Eisenhämatoxilin nach Heidenhain gefärbten Präparaten von Tieren, die mit Witte-Pepton gefüttert oder mit Witte-Pepton oder Erepton injiziert worden waren, zeigten die Mitochondrien immer das gleiche Aussehen. Auch was das zeitliche Auftreten der Eiweißspeicherungen betrifft, waren Unterschiede nicht bemerkbar. Man kann darin einen Hinweis darauf erblicken, daß die der Leber vom Blute zugeführten Stoffe immer die gleichen waren. Trotzdem aber müssen wir, wie wir sahen, die Fähigkeit des Darmes, größere Komplexe als solche, und nicht nur die Bausteine des Eiweißes zur Resorption zu bringen, annehmen.

Zur Frage der Eiweißsynthese ist auf Grund dieser Versuche noch folgendes zu erwähnen: Mit dem Nachweis der Eiweißspeicherung nach Verfütterung von Eiweißabbauprodukten bis herab zu den Aminosäuren ist der Nachweis der Eiweißsynthese aus diesen Stoffen erbracht. Es sind Stimmen laut geworden¹⁾, die den bisherigen Nachweis der Eiweißsynthese im Tierkörper, nämlich die Feststellung einer positiven Stickstoffbilanz, in Zweifel zogen und Stickstoffretentionen nicht unbedingt gleich Eiweißsynthese gesetzt wissen wollten. Da das in der Leber gespeicherte Eiweiß aber wohl sicher bereits ein hochmolekularer Eiweißkörper und vom Organismus in Verarbeitung genommenes Eiweiß ist, so sind wir berechtigt, in

¹⁾ Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 67. — Lüthje und Berger, Zeitschr. f. klin. Med. 44, H. 1 u. 2. — R. Rosemann, Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 467.

den Fällen, wo wir mit Eiweißspaltprodukten Eiweißspeicherung erzielen können, von Eiweißsynthese zu sprechen. Wenn so Eiweißspeicherung auf Eiweißsynthese mit Sicherheit hinweist, so ist dabei zu bedenken, daß nicht umgekehrt das Ausbleiben der Eiweißspeicherung unbedingt auf das Ausbleiben der Synthese schließen läßt. Denn nachgewiesenermaßen kann die Eiweißspeicherung aus irgendwelchen Gründen ausbleiben, auch wenn alle Bausteine zur Synthese vorhanden sind.

Anregung und Unterstützung bei diesen Versuchen verdanke ich meinem Lehrer, Herrn Professor Berg, in dessen Hand auch die Fortführung der Untersuchungen liegt.

Über antianaphylaktische Erscheinungen bei den homologen und heterologen Antihammelsera von Kaninchen.

Von

J. Forssman und J. Fex.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

(Eingegangen am 23. Juni 1914.)

Daß Hammelsera von Kaninchen für Meerschweinchen eine bisweilen erhebliche Toxizität besitzen, hat Friedberger als erster gefunden und die Giftwirkung unter die Anaphylaxie eingereiht. Es ist allerdings wahr, daß von einigen Verfassern Einwände gegen diese Deutung erhoben worden sind, aber für alle, welche die Symptomatologie dieser Vergiftung und die Leichenbefunde bei den hieran gestorbenen Tieren genau studiert haben, kann doch kein Zweifel darüber bestehen, daß man es hier wirklich mit einer echten Anaphylaxie zu tun hat.

Der Mechanismus dieser Vergiftung war aber ganz rätselhaft, bis Forssman und Hintze bewiesen, daß die genannten Sera mit Meerschweinchenorganen, z. B. Nieren, reagierten und daß die Toxizität der Sera beim Digerieren mit solchen Organen verschwand. Da zudem durch Injektionen bei Kaninchen von Organen aus Meerschweinchen, Pferden und Katzen u. a. sowohl Hammelhämolsine (Forssman) wie auch für Meerschweinchen hochtoxische Sera (Forssman und Hintze, Doerr und Pick) erhalten wurden, deren Toxizität nicht durch Meerschweinchenblutkörperchen, aber durch Meerschweinchenorgane adsorbiert wurde, war man dem Verständnis der Toxizität näher gekommen, indem es deutlich war, daß die Toxizität der hammelhämolytischen Kaninchensera für Meerschweinchen von einer Reaktion zwischen diesen Sera und den Meerschweinchenorganen abhing.

Worin aber diese Reaktion besteht und wie sie bei passender Dosierung den anaphylaktischen Chok auslöst, davon weiß man ebensowenig wie betreffs der entsprechenden Verhältnisse bei anderen Formen von Anaphylaxie.

Zusammen mit Castelli hat auch Friedberger¹⁾ gezeigt, daß man durch Injektionen von untertödlichen Dosen eines Antihammelkaninchenserums Meerschweinchen vor der tödlichen, 24 Stunden später gegebenen Dosis schützen kann. Diese Schutzwirkung ist von Friedberger und Castelli als eine antianaphylaktische bezeichnet. Kraus und Müller²⁾, die diese Angabe Friedbergs und Castellis nachgeprüft und bestätigt haben, lehnen es jedoch entschieden ab, die Schutzwirkung als Antianaphylaxie aufzufassen, hauptsächlich aus dem Grunde, weil auch normales Kaninchenserum, nicht aber Pferde- oder Ochsen Serum in großen Dosen dieselbe Wirkung ausübt.

Daß normalem Serum eine solche Wirkung zukommt, haben auch wir gesehen³⁾, aber für uns ist diese Tatsache kein Beweis gegen den Antianaphylaxiecharakter der Schutzwirkung von untertödlichen Dosen der Antihammelsera. Im Gegenteil, dieser Befund paßt ausgezeichnet zu der Auffassung, daß es sich hier um Antianaphylaxie handelt. Berücksichtigt man nämlich, wie wir in unserer vorigen Arbeit hervorgehoben haben, erstens, daß hammelhämolysische Kaninchenserum — mögen sie durch Injektionen von Hammelblut, von Meerschweinchen-, Pferde- oder Mäuseorganen erhalten sein — gleichzeitig für Meerschweinchen auch toxisch sind, d. h. anaphylaktische Reaktionskörper haben, und zweitens, daß auch normales Kaninchenserum oft hammelhämolysisch ist, und daß dessen Hammelhämolysine ausgiebig von Meerschweinchenorganen adsorbiert werden⁴⁾, so ist es sehr naheliegend, anzunehmen, daß solches Serum auch anaphylaktische Reaktionskörper für Meerschweinchen enthält.

Daß normales Kaninchenserum keine hervortretende Toxizität für Meerschweinchen entfaltet, braucht nicht gegen die Richtigkeit dieser Annahme zu sprechen, denn, wenn die toxische

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 6.

²⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 8. 418.

³⁾ Diese Zeitschr. 61, 23.

⁴⁾ Forssman, diese Zeitschr. 37, 112.

Substanz in sehr geringer Menge vorkommt, kann es vielleicht unmöglich oder jedenfalls schwierig sein, sie unter Anwendung von mittelmäßig großen Serumdosen zu entdecken. Um einen Schutz zu bewirken, genügt ja dagegen, wie schon Friedberger und Castelli gefunden haben, nur ein Bruchteil ($\frac{1}{3}$) der tödlichen Dosis, und da die Schutzwirkung spezifisch ist, kann man eben durch sie das Vorkommen von einem solchen Reaktionskörper in normalem Kaninchenserum beweisen.

Also, durch seinen Gehalt an anaphylaktischen Reaktionskörpern für Meerschweinchen ruft das normale Kaninchenserum wie jedes andere Antihammelkaninchenserum eine Antianaphylaxie gegen Antihammelkaninchenserum vor; so wird die beobachtete Schutzwirkung der normalen Kaninchensera verständlich.

Um nun durch normales Kaninchenserum die Antianaphylaxie zu erhalten, mußten Kraus und Müller wenigstens 4 ccm Serum intraperitoneal injizieren (3 ccm genügten nicht) und bei intravenösen Injektionen hatten wir 1,5 ccm (inaktiviertes) anwenden müssen, um den gewünschten Schutz zu bekommen. Bei Immunantihammelsera haben andererseits Friedberger und Castelli, wie schon erwähnt, Antianaphylaxie durch ungefähr $\frac{1}{3}$ der akut tödlichen Dosis bekommen. Wenn hiermit die untere Grenze der Antianaphylaxie erzeugenden Dosis erreicht wäre, könnte man vielleicht fordern, daß umgekehrt das Dreifache der Schutzdosis der Normalsera akut tödlich wirken sollte, daß also, wenn die Schutzdosis für Meerschweinchen von ungefähr 300 g 1,5 ccm war, 4,5 ccm desselben Serums ein solches Tier auch akut töten mußte.

Bei sehr frischen, nicht inaktivierten, normalen Kaninchensera sieht man auch oft eine solche Toxizität, ältere oder inaktivierte Normalkaninchensera sind dagegen in solchen Dosen jedenfalls oft für Meerschweinchen nicht sehr toxisch¹⁾.

Kann man denn deshalb nicht die eventuelle Schutzwirkung solcher schwachtoxischen Normalsera als eine antianaphylaktische deuten? Die Antwort hängt davon ab, ob man auf Beispiele von den übrigen Antihammel-Kaninchensera hinweisen kann, wo

¹⁾ Mita und Ito, Zeitschr. f. Immuniätsforsch. Orig.-Bd. 17.

Antianaphylaxie durch sehr kleine, weit unter $\frac{1}{8}$ der akut tödlichen Dosis liegende Seruminjektionen sich hervorrufen läßt. Kann man das tun, so ist es ja sehr wahrscheinlich, daß die Verhältnisse bei den Normalsera gleich sind, und daß also, wenn die Schutzdosis 1,5 ccm ist, die akut tödliche Dosis erst bei 15 bis 20 ccm zu liegen braucht. Ist dagegen die untere Grenze der Antianaphylaxie erzeugenden Dosis bei den übrigen Antihammel-Kaninchensera mit $\frac{1}{8}$ der akut tödlichen Dosis erreicht, so wird es schwierig sein, die Schutzwirkung von relativ kleinen Dosen schwachtoxischer Kaninchensera als Antianaphylaxie aufzufassen, da man in diesem Falle keine Analogien anführen kann.

Es kam uns deshalb darauf an, zu untersuchen, in welchem Verhältnisse die Antianaphylaxie erzeugende Dosis zu der akut tödlichen Dosis bei den Antihammel-Kaninchensera steht, oder vielleicht richtiger, wie klein jene im Vergleich zu dieser sein kann.

Bevor wir aber über die hierhergehörigen Versuche berichten, möchten wir einige Worte betreffs der von uns benutzten Technik sagen.

Wie in unserer früheren Arbeit haben wir auch hier alle Injektionen mit den toxischen Sera intravenös in die V. jugularis des Meerschweinchens gemacht. Trotz der größten Vorsicht kommt es doch vor, daß die Spritzenkanüle nicht in die Vene hineinkommt, sondern z. B. diese hindurchdringt und in das die Vene umgebende Bindegewebe sich verirrt. Um nicht hierdurch in unseren Resultaten mißgeleitet zu werden, haben wir, wenn nötig, unsere Sera so verdünnt, daß nie zu geringe Flüssigkeitsmengen für die Injektionen benutzt wurden, und da wir zudem die Injektionen schnell ausführten und dabei die Kanülenspitze beobachteten, war das Hineindringen auch eines kleinen Teiles von der Injektionsflüssigkeit in die Bindegewebe nicht zu übersehen, weil in diesem Falle eine deutliche Auftreibung der perivenösen Bindegewebe hervortrat.

Diese technischen Bemerkungen können vielleicht unnötig erscheinen, aber wir sind dadurch veranlaßt sie vorzuführen, weil wir bei einigen Verfassern sehr unregelmäßige Resultate bei Injektionen von toxischen Sera gesehen haben. Das ist auch bei uns vorgekommen, aber nur wenn eine Injektion mißgelungen war; in allen anderen Fällen hat die Wirkung unserer toxischen Sera sich als sehr regelmäßig gezeigt.

Wir geben nun die Versuchsserie:

Über die kleinste Schutzdosis im Verhältnis zu der akut tödlichen Dosis eines und desselben Serums.

Hierzu haben wir ein ziegenhämolysches Kaninchenserum benutzt, dessen hämolyscher Titer für Ziegenblut 0,0002 ccm und für Hammelblut 0,0001 ccm war. Soweit nichts anderes gesagt wird, sind alle hier und in folgenden Versuchsserien angewandten Sera eine halbe Stunde bei 55° inaktiviert.

Tabelle I.

Sowohl die Erstinjektionen wie die Reinjektionen sind mit dem oben genannten ziegenhämolyschen Serum gemacht. Die Dosen pro 100 g Tier sind hier bei den Erstinjektionen nur ungefährlich aus den faktisch injizierten Dosen, die unter Dosis „pro Tier“ angegeben sind, ausgerechnet. Alle Reinjektionen sind mit einer und derselben Verdünnung ausgeführt.

Nummer	Erste Injektion				Resultat	Zweite Injektion				Resultat	
	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums			Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums			
			pro Tier ccm	pro 100 g ccm				pro Tier ccm	pro 100 g ccm		
1	23. III.	370	0,04	0,01	Keine Symptome do. do. do. do. do.	24. III.	370	0,13	0,035	Atmung beschleunigt. Überlebt.	
2	23.	280	0,03	0,01		do.	24.	280	0,196	0,070	Tot n. 15 Min. Typ. Anaphylaxie.
3	23.	250	0,006	0,002		do.	24.	230	0,08	0,035	Atmung beschleunigt. Überlebt.
4	23.	280	0,0075	0,0025		do.	24.	280	0,196	0,070	„ „ Tod nach 86 St.
5	23.	320	0,003	0,001		do.	24.	310	0,11	0,035	Atmung beschleunigt. Überlebt.
6	23.	250	0,0006	0,0002		do.	24.	250	0,08	0,032	Tot in 12 Min. Typ. Anaphylaxie.
7							24.	250	0,1	0,04	„ „ 3 „ „ „
8							24.	280	0,098	0,035	„ „ 8 „ „ „
9							24.	270	0,081	0,03	„ „ 40 „ „ „

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß man mit weit kleineren Dosen als $\frac{1}{8}$ der akut tödlichen Dosis Antianaphylaxie erzeugen kann. Tier 5 zeigt, daß schon 0,001 ccm pro 100 gm Tier, also $\frac{1}{35}$ der akut tödlichen Dosis hierfür genügt; mit 0,0002 ccm ging es dagegen nicht, das Tier zu antianaphylaktisieren.

Die Tiere 1, 3 und 5 waren im gleichen Grade durch die Reinjektionen affiziert. Das sieht merkwürdig aus, denn man konnte doch erwarten, daß die Schutzwirkung mit steigenden Dosen zunähme. Das ist aber nur der Fall, wenn man unter die gut schützende Grenzdosis herunter kommt. Sobald man

diese erreicht hat, ist es einerlei, ob man nur diese oder die zehnfache gibt, was wir nicht nur hier, sondern auch bei anderen Sera konstatiert haben. Daß der Grad des Schutzes bei der hier abgehandelten Form der Antianaphylaxie nie hoch wird, das wird noch einmal hier bestätigt, indem die doppelte tödliche Dosis (2 und 4) nicht vertragen wurde. Friedberger, Castelli und wir haben dasselbe gesehen, selbst wenn $\frac{1}{8}$ der tödlichen Dosis injiziert wurde.

Da also ein solcher winziger Bruchteil wie $\frac{1}{32}$ der akut tödlichen Dosis Schutzwirkung ausüben kann, ist es — wenn es erlaubt ist ex analogia zu schließen — klar, daß wir Normalsera finden können, die in Dosen von 1 ccm antianaphylaktisieren, ohne daß wir imstande sind, ihre Toxizität zu beweisen, da hierfür so große Dosen vielleicht nötig wären, daß es praktisch unmöglich wäre, sie zu benutzen.

In diesem Zusammenhange haben wir auch untersucht, ob die hier besprochene Antianaphylaxie Schwankungen aufweist oder ob sie vom Anfang an ihre volle Entwicklung hat und dann nur allmählich verschwindet.

Die hiergehörigen Versuche wurden so ausgeführt, daß wir Meerschweinchen mit ganz derselben Dosis des ziegenhämolytischen Kaninchenserums 7 resp. 4 Tage vor den Reinjektionen behandelten, um dann an einem und demselben Tag mit einer und derselben Serumverdünnung des eben genannten toxischen ziegenhämolytischen Serums zu reinjizieren, nachdem wir zuerst die Toxizität der Verdünnung für frische Meerschweinchen von 250 g Gewicht bestimmt hatten; sie betrug 0,035 pro 100 g. In Tabelle II sind die Versuche zusammengestellt.

Wir wissen aus Tabelle I, daß, wenn wir die Reinjektionen am nächsten Tag nach den Erstinjektionen folgen lassen, die hier in Tabelle II für die Erstinjektionen benutzte Serumdosis vollkommen genügt, um die so injizierten Tiere vor der einfachen tödlichen Dosis zu schützen. Nie, weder in diesen noch in früheren Versuchen ist es uns vorgekommen, daß die erstinjizierten Tiere Widerstand gegen die doppelte, akut tödliche Dosis zu leisten vermochten. Wenn wir nun Tabelle II

betrachten, finden wir, daß das Tier 12, das am vierten Tag vor der Reinjektion antianaphylaktisiert wurde, die einfache tödliche Dosis verträgt, und daß die beiden Paralleltiere 13 und 14 durch die doppelte tödliche Dosis akut starben. Betreffs der Tiere, die 7 Tage vor den Reinjektionen antianaphylaktisiert waren, sieht man, daß sie (Tiere 11 und 10) weder der einfachen und dann natürlich noch weniger der doppelten tödlichen Dosis widerstehen; aber, da das Tier 11 doch nicht akut, sondern sehr verspätet starb, geht daraus hervor, daß eine wenn auch verringerte Antianaphylaxie noch existierte.

Tabelle II.

Nummer	Erste Injektion				Zweite Injektion				
	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums	Resultat	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums		Resultat
							pro Tier ccm	pro 100 g ccm	
10	26. III.	270	0,015	Keine Symptome	2. IV.	270	0,189	0,070	Tot in 7 Min. Typ. Anaphylaxie
11	26.	270	0,015	do.	2.	280	0,098	0,035	Schnellatm. Totl. 50 M. Typ. „
12	29.	250	0,015	do.	2.	240	0,084	0,035	„ Überlebt.
13	29.	270	0,015	do.	2.	270	0,189	0,070	Tot in 8 Min. Typ. Anaphylaxie
14	29.	270	0,015	do.	2.	260	0,182	0,070	„ „14 „ „ „

Es ist demnach aus Tabelle II ersichtlich, daß, sobald die Antianaphylaxie erzeugt ist, sie jedenfalls 4 Tage ganz unverändert bleibt, weder sinkt (12) noch steigt (13, 14) und daß sie selbst nach 7 Tagen nur eine geringe Erniedrigung (11) aufweist.

Die Schutzwirkung der normalen Kaninchensera.

Nach diesen vorbereitenden Untersuchungen möchten wir über unsere Ergebnisse betreffs der Schutzwirkung der normalen Kaninchensera berichten. Solche Sera wurden nun auf ihre Schutzwirkung dem ziegenhämolysischen Kaninchenserum gegenüber geprüft. Wie wir schon früher hervorgehoben haben, schien es uns wahrscheinlich, daß diese Wirkung, die von Normalantikörpern abhängig ist, bei verschiedenen Kaninchensera wechselt, da wohl die hierbei wirksamen Antikörper wie alle anderen normalen Antikörper großen Variationen unterworfen sind.

Tabelle III.

Die Sera I, II, III und IV stammen von verschiedenen, gesunden, ungefähr 2 kg schweren unbehandelten Kaninchen. Die Reinjektionen sind mit demselben ziegenhämolytischen Kaninchenserum, das für die Reinjektionen in Tab. I benutzt ist, und mit derselben Verdünnung dieses Serums wie dort gemacht; die Kontrollen in Tabelle I sind deshalb auch für diese Tabelle gültig, doch können Nr. 17, 18, 19, 20, 22 und 23 hier unten auch als Kontrolle gelten.

Serum III löste zusammen mit 0,1 Meerschweinchen Serum 1 ccm 5% Hammelblut in Dosis von 0,1 ccm, die anderen Seren lösten dagegen gar nicht in dieser Dosis.

Nummer	Erste Injektion					Zweite Injektion				
	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Serum-nummer	Serum-dosis ccm	Resultat	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums		Resultat
								pro Tier ccm	pro 100 g ccm	
15	23. III.	270	Ser. I	1,5	Keine Symptome	24. III.	270	0,094	0,035	Atmung beschleunigt, überlebt
16	23.	270	do.	1,0	do.	24.	250	0,087	do.	Tot in 25 Min. Typ. Anaphylaxie
17	23.	300	do.	0,5	do.	24.	290	0,101	do.	" " 2 " " "
18	23.	240	do.	0,1	do.	24.	250	0,087	do.	" " 15 " " "
19	23.	300	Ser. II	1,5	do.	24.	290	0,101	do.	" " 15 " " "
20	23.	290	do.	1,0	do.	24.	290	0,101	do.	" " 10 " " "
21	23.	270	Ser. III	1,5	do.	24.	270	0,094	do.	Atmung ein wenig beschleunigt, überlebt
22	23.	310	do.	0,5	do.	24.	310	0,108	do.	Tot in 7 Min. Typ. Anaphylaxie
23	23.	290	Ser. IV	2,0	Atmung beschl.	24.	280	0,098	do.	" " 14 " " "
24	23.	230	do.	3,0	do.	24.	230	0,08	do.	Atmung beschleunigt, überlebt

Wir sehen hier, daß die Sera I und III in Dosen von 1,5 ccm intravenös Antianaphylaxie (15, 21) erzeugen und daß selbst 1 ccm von Serum I (16) eine geringe Verzögerung des Todes bewirkt. Ohne jeden Einfluß ist dagegen Serum II (19, 20) in denselben Dosen und 2 ccm von Serum IV (23), während 3 ccm Serum IV (24) schützen.

Es wäre wohl möglich, daß, wenn man noch mehrere Normalkaninchenserum in dieser Beziehung untersuchen wollte, darunter auch besser schützende Normalsera angetroffen werden könnten, doch ist es aus den hier angeführten Schutzdosen höchst wahrscheinlich, daß immer relativ große Dosen von Normalserum benutzt werden müssen, um Antianaphylaxie zu bewirken im Vergleich zu den Dosen, die für denselben Zweck von Immunantisera von Kaninchen notwendig sind.

Was wir erwarteten, nämlich daß die Schutz-

wirkung verschiedener Normalkaninchensera verschieden groß sein würde, geht aus dieser Serie deutlich hervor.

Hierzu möchten wir folgende Bemerkungen machen. Bevor wir die Schutzwirkung der Normalsera genau studiert hatten, fiel uns die Tatsache als etwas eigentümliches auf, daß wir bei verschiedenen Antisera (z. B. Antirindersera) aus Kaninchen Schutzwirkung in Dosen von 1,5 ccm bis 2 ccm (nicht weniger) zufälligerweise beobachteten, und wir sahen darin etwas Unspezifisches. Nachdem wir nun die Schutzwirkung der Normalsera in oben gefundenen Dosen kennen, scheint es dagegen selbstverständlich, daß auch alle möglichen Antisera aus Kaninchen eine ähnliche Schutzwirkung entfalten können, wobei die eventuelle Schutzwirkung durch den Gehalt der Sera an normalen Antikörpern bedingt ist und nicht in irgendwelcher Relation zum vorgenommenen Immunisierungsprozeß zu stehen braucht.

Wie oben erwähnt, haben wir angenommen, daß als Grund für diese Schutzwirkung der normalen Kaninchensera ihr Gehalt an anaphylaktischen Reaktionskörpern ist, die mit den Meerschweinchenorganen reagieren und dadurch die Anti-anaphylaxie bewirken. Wäre diese Auffassung richtig, so sollte, vorausgesetzt, daß die Reaktion auch *in vitro* stattfindet, die Schutzwirkung der normalen Kaninchensera beim Digerieren mit Meerschweinchenorganen durch Adsorption entfernt werden können. In folgenden Versuchen, Tabelle IV, haben wir nun geprüft, wie es sich hiermit verhält.

Von zwei normalen Kaninchensera V und VI wurde jenes wie gewöhnlich inaktiviert, dieses nicht. In 10 ccm von jedem Serum wurde je eine Meerschweinchenniere (1,5 gm) zerrieben, die Aufschwemmungen $\frac{1}{2}$ Std. in 37° aufbewahrt, danach zentrifugiert, bis die obenstehenden Flüssigkeiten vollkommen hell waren. Die mit Meerschweinchennieren behandelten Portionen wurden als VN und VIN bezeichnet. Die Reinjektionen wurden mit dem von früheren Versuchen schon bekannten ziegenhämolysischen Serum gemacht, und zwecks Kontrolle wurde ein Tier (32) auch mit diesem Serum (Z) erstinjiziert. Daß so große Dosen von Normalsera benutzt worden sind, beruht darauf, daß wir anfangs die Toxizität der Sera prüfen wollten. Nachdem es sich aber herausstellte, daß die Sera selbst in Dosen von 2,5 ccm pro 100 g Tier nicht toxisch waren, wurden die Tiere in dieser Serie angewandt. Wenn wir die Resultate der Tabelle III berücksichtigen, wäre es wahrscheinlich auch gelungen, mit kleineren Dosen der Sera als den hier benutzten Antianaphylaxie auszulösen.

Tabelle IV.

Erste Injektion						Zweite Injektion					
Nummer der Tiere	Datum der Injektionen	Nummer der injizierten Sera	Gewicht der Tiere	Serum- dosis		Resultat	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Serum- dosis		Resultat
				pro Tier ccm	pro 100 g ccm				pro Tier ccm	pro 100 g ccm	
25	24. IV.	V	250	4,0	1,6	Unruhe.	25. IV.	240	0,096	0,040	Atmung beschleunigt; überlebt.
26	24.	V	250	5,0	2,0	do.	25.	250	0,100	"	Wenig Unruhe; überlebt.
27	24.	V	220	5,5	2,5	do.	25.	220	0,176	0,080	Tot in 5 Min. Typ. Anaphylaxie.
28	24.	VN	260	3,90	1,5	Starke Unruhe.	25.	240	0,096	0,040	" „ 10 „ „ „
29	24.	VI	230	3,45	1,5	Unruhe.	25.	220	0,088	"	Keine Symptome; überlebt.
30	24.	VI	240	6,0	2,5	do.					
31	24.	VIN	250	3,75	1,5	Starke Unruhe.	25.	220	0,088	"	Tot in 6 Min. Typ. Anaphylaxie.
32	24.	Z	250	0,025	0,01	do.	25.	250	0,100	"	Atmung beschleunigt; überlebt.
33							25.	330	0,132	"	Tot in 17 Min. Typ. Anaphylaxie.

Daß die angewandten Sera V und VI Antianaphylaxie hervorrufen, ist deutlich. Wie gesagt, wären wahrscheinlich kleinere Dosen imstande gewesen, denselben Effekt zu bewirken; aus Ursachen, die oben erwähnt sind, wurden jedoch so große Dosen gewählt. Die Tabelle zeigt nun, daß die Schutzwirkung dieser Sera durch Digerieren mit Meerschweinchennieren verschwindet (28 und 31). Hiermit haben wir also den Beweis geliefert, daß die Schutzwirkung der normalen Kaninchensera durch solche Substanzen bedingt ist, die ganz wie die toxische Substanz der Antihammelsera von den Meerschweinchenorganen adsorbiert werden.

Bei den Antihammelsera sind die Schutzwirkung und die Toxizität durch dieselbe Substanz bedingt, es ist nur eine Dosierungsfrage, ob man Schutzwirkung oder eine hervortretende toxische Wirkung erhalten will. Bei den normalen Kaninchensera liegt die Sache aller Wahrscheinlichkeit nach ganz analog. Wir haben nun gesehen, daß die Schutzwirkung eines solchen Serums nach Digerieren mit Meerschweinchenorganen (Nieren) verschwindet, d. h. daß die Nieren die schützende Substanz adsorbieren. Hätten wir ein normales Kaninchen Serum gehabt, das inaktiviert¹⁾ toxisch für Meerschweinchen gewesen

¹⁾ Da die Toxizität der nicht inaktivierten normalen Kaninchensera sehr unbeständig ist (Mita und Ito), haben wir davon abgesehen, solche Sera zu benutzen, sondern haben nur mit inaktivierten gearbeitet. Die Toxizität der nicht inaktivierten Normalsera hängt wahrscheinlich oder, wir können sagen, sicher von mehreren verschiedenen Faktoren ab.

wäre, würde demnach auch die Toxizität von Meerschweinchen nieren absorbiert worden sein. Leider haben wir jedoch aus Mangel an toxischen Normalsera dies nicht prüfen können.

Man kann aber auch einen andern Weg gehen, um zu zeigen, daß die Toxizität der normalen Kaninchensera mit derjenigen Toxizität zusammengehört, die wir bei den Antihammelsera finden, wo sie ja durch Meerschweinchenorgane adsorbiert wird. In unserer vorigen Arbeit bewiesen wir nämlich, daß bei den gewöhnlichen toxischen Antihammel- resp. Antiziegen-Kaninchensera, mögen sie durch Blut- oder Organinjektionen hervorgerufen sein, eine gewisse Gegenseitigkeit besteht, indem untertödliche Dosen von einem Serum gegen tödliche Dosen eines anderen Serums und umgekehrt schützen. Unter solchen Umständen wäre es zu erwarten, daß, da normales Kaninchenserum gegen ziegenhämolytisches Kaninchenserum schützt, dieses auch gegen jenes schützen sollte. Daß eine solche Wechselbeziehung hier wirklich vorkommt, ist aus dem folgenden Versuche, wenn nicht sicher bewiesen, so doch höchst wahrscheinlich. Zufälligerweise bekamen wir ein normales Kaninchenserum, das (inaktiviert) in Dosen von 1,5 ccm pro 100 g Tier intravenös Meerschweinchen in einigen Minuten tötete. Dabei war die Respiration nicht so verändert wie bei der gewöhnlichen Anaphylaxie, aber die Krämpfe waren stark und die Lungenblähung wie nach Anaphylaxie. Das Serum war im Versuchsaugenblicke 24 Stunden alt und wurde im Eisschranke aufbewahrt. Den Tag nach der Toxizitätsprüfung wurde ein Tier, welches durch das hier viel benutzte toxische ziegenhämolytische Kaninchenserum antianaphylaktisiert worden war, mit dem eben genannten toxischen Normalserum in Dosis von 1,5 ccm pro 100 g intravenös injiziert, wonach es nur unbedeutende Symptome zeigte und überlebte. Da wir inzwischen nicht mehr von diesem Normalserum hatten, konnten wir keine neue Toxizitätsbestimmung machen, und deshalb kann nicht bestritten werden, daß möglicherweise die Toxizität des Serums in 24 Stunden so weit heruntergegangen war, daß es nicht mehr in der genannten Dosis tötete. Da zwar das inaktivierte Serum bei der ersten Toxizitätsbestimmung schon 24 Stunden alt war — gerade während der ersten Zeit nach dem Aderlasse sinkt, wie Mita und Ito gezeigt haben, die Toxizität der normalen Ka-

ninchensera hauptsächlich — und da das Serum bei dieser Prüfung in Dosis von 1,5 ccm so stark wirkte, ist es höchst wahrscheinlich, daß es auch 24 Stunden später ungefähr dieselbe Toxizität besaß.

Für diejenigen Verfasser, die toxische normale Kaninchensera antreffen, darf es also angezeigt sein, teils diese Frage aufzunehmen, teils auch zu prüfen, ob nicht die Toxizität der Normalsera beim Digerieren mit Meerschweinchennieren verschwindet. Daß sie beim Digerieren mit Meerschweinchenblut nicht wegfällt, haben Mita und Ito gefunden, aber soweit ich sehen kann, war das auch nicht zu erwarten.

Ist die Schutzwirkung gegenüber den Antihammelsera, die den normalen Kaninchensera also zukommt, für diese Normalsera spezifisch, oder findet man sie auch bei anderen Normalsera? Kraus und Müller haben bewiesen, daß einerseits Pferde- und Ochsen sera keinen Schutz gewähren und schließen, daß „andersartige normale Sera“ (als Kaninchensera) „diese Eigenschaft nicht besitzen“; andererseits fanden sie, daß Kaninchensera gegen andere toxische Sera als Antihammelsera, z. B. Ochsen sera, nicht schützen. Dies deutet zweifelsohne darauf hin, daß die Schutzwirkung der Kaninchensera spezifisch ist.

A priori konnte man doch erwarten, daß sowohl solche Sera, die Hammelantigen (z. B. Hammel sera), wie solche, die Hammelantikörper (z. B. normales Kaninchenserum und Antihammel sera) enthalten, Schutzwirkung ausüben würden, diese wegen Sättigung der Verbindungen, mit denen die toxischen Sera reagieren, jene wegen Sättigung der toxischen Sera selbst.

Wäre dies der Fall, würde natürlich die oben zitierte Äußerung von Kraus und Müller nicht zu Recht bestehen, dennoch aber würde eine gewisse Form von Spezifität bestehen, diejenige nämlich, der an dem Vorkommen von Hammelantigen oder Hammelantikörpern in den Sera gebunden wäre. Wirklich haben auch Friedberger und Castelli¹⁾ auf Grund einiger Versuche angenommen, daß „die vorherige Injektion des Antigens“ (Hammelblut und normales Hammel serum) „einen gewissen Schutz gegenüber den toxischen Seris hervorruft; doch

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 4, 70.

ist dieser nicht sehr weitgehend“. Durchmustert man indessen die Versuchsserie von Friedberger und Castelli genau, so findet man, daß diese kein eindeutiges Resultat geliefert hat, und man kann den Verdacht nicht von der Hand weisen, daß Zufälligkeiten dabei im Spiele gewesen sind (vgl. z. B. Versuche 204 mit 206 und 213, 214 und 215 bei Friedberger-Castelli. (Die Tabelle IX stimmt nicht mit den Versuchsprotokollen überein.)

Es schien uns deshalb nötig, diese Frage noch einmal aufzunehmen; wir haben also normales Hammelserum in dieser Beziehung geprüft; weiter haben wir auch normale Rattenserum, Antihammelserum von Ratten und von Meerschweinchen und Antiziegenserum vom Hammel auf ihre Schutzwirkung untersucht, um so ein größeres Material als Grundlage für die Diskussion zu erhalten. Diese Untersuchungen einbegriffen, sind folgende verschiedene Typen von der Sera betreffs ihrer Schutzwirkung studiert, nämlich 1. Serum von einem Tier ohne Hammelantikörper, das Hammelantigen in seinen Organen, nicht aber in seinen Blutkörperchen enthält (normales Pferd); 2. Serum von einem Tier, ebenfalls ohne Hammelantikörper, das Hammelantigen im Blute hat (Hammel); 3. Serum von einem Tier, das unter normalen Verhältnissen Hammelantigen in seinen Organen, nicht aber in seinen Blutkörperchen enthält und das mit Hammelblut immunisiert worden ist (mit Hammelblut injiziertes Meerschweinchen); 4. Serum von einem Tier ohne Hammelantigen, aber mit normalen Hammelantikörpern (normales Kaninchen); 5. Serum von einem Tier ohne Hammelantigen und ohne Hammelantikörper (normale Ratte) und 6. Sera von Tieren ohne Hammelantigene, aber mit immunisatorischen Hammelantikörpern (mit Hammel- oder Ziegenblut, verschiedenen Organen usw. immunisierten Ratten und Kaninchen).

Serumtypus 1. Betreffs der ersten Kategorie von Sera verweisen wir auf die mehrmals erwähnte Arbeit von Kraus und Müller, laut welcher normales Pferdeserum bis in Dosis von 5 ccm intraperitoneal nicht schützt, und möchten wir hier hinzufügen, daß in Versuchen mit solchem Serum, die wir angestellt haben, dies auch nach intravenösen Injektionen bis 2 ccm sich unwirksam erwiesen hat.

Serumtypus 2. Die Schutzwirkung von normalen Hammelsera. Wenn man die Schutzwirkung normaler Hammel-

sera gegen Antihammelsera studieren will, so muß man bedenken, daß diese Schutzwirkung vielleicht von derjenigen Anaphylaxie überholt werden kann, die laut einigen Autoren durch Zusammenwirkung von normalem Hammelserum, als Erstinjektion gegeben, und 24 Stunden später injiziertes Antihammelserum sich entwickelt. Wir haben allerdings ein Antiziegenserum angewandt, da aber dies Serum, wie erwähnt, zum mindesten ebenso stark hämolytisch auf Hammelblut wie auf Ziegenblut wirkt und da sog. Verwandtschaftsreaktionen auch bei der Anaphylaxie zwischen Ziegen-, Hammel- und Ochsen Serum vorkommen¹⁾, so war es zu erwarten, daß, wenn überhaupt bei Meerschweinchen Anaphylaxie durch eine erste Antigeninjektion und eine 24 Stunden später vorgenommene Antikörperinjektion ausgelöst werden kann, wir ihr auch hier begegnen würden.

Die verschiedenen Resultate, die bei solcher Versuchsanordnung erhalten worden sind, indem einige Verfasser Anaphylaxie, andere aber keine Anaphylaxie hierbei gesehen haben, hängen vielleicht davon ab, daß man verschiedene Tierspezies (Kaninchen und Meerschweinchen) benutzt hat. Daß bei Meerschweinchen nach solchen Injektionen keine Anaphylaxie hervortritt, scheint uns aus den Versuchen von Doerr und Ruß²⁾ höchst wahrscheinlich. Diese Autoren haben bei einigen Meerschweinchen verschiedene Dosen normales Ziegenserum und dann 24 Stunden später Antiziegenserum injiziert, bei anderen ganz dieselben Dosen der Sera, aber in umgekehrter Ordnung (also das Antiserum zuerst und 24 Stunden später das Ziegenserum) gegeben. In der letzten Gruppe sind alle Tiere in 5 Minuten anaphylaktisch gestorben, in der ersten keine. Nun wissen wir, was damals nicht bekannt war, daß Antiziegensera per se toxisch für Meerschweinchen sind, aber auch, daß diese Toxizität bei verschiedenen Sera außerordentlich wechselt. Augenscheinlich haben die genannten Autoren zufälligerweise ein sehr wenig toxisches Antiserum gehabt; dadurch haben sie die zitierten Resultate bekommen; und eben dadurch ist es ihnen gelungen zu zeigen, daß Anaphylaxie bei solcher Versuchsanordnung wahrscheinlich nicht vorkommt.

¹⁾ Thomson, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1.

²⁾ Doerr und Ruß, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 3, 719.

Wir haben nun sechs verschiedene normale Hammelsera bezüglich ihrer Schutzwirkung geprüft. Daß wir so viele versucht haben, beruht darauf, daß wir im Laufe der Untersuchung die Frage von neuen Gesichtspunkten betrachtet haben und mehrmals zu normalen Hammelsera zurückgekommen sind.

Die Sera werden in der Tabelle V mit den Nummern I bis VI bezeichnet, wobei besonders bemerkt werden soll, daß Serum III von einem Lämmchen, Serum IV von einem einjährigen Schafe und Serum V von einem alten Hammel stammte; das Serum VI war mit wasserhämolyisiertem Hammelblut versetzt, so daß 10 ccm dieses Serums Stromata von 0,2 ccm Hammelblut enthielten; zwei Meerschweinchen wurden auch mit Hammelblut (Bl in der Tabelle) — Vollblut — injiziert. Sämtliche Injektionen wie immer intravenös, wenn wir von der ersten Injektion bei Tier 50 absehen; und alle Sera inaktiviert. Alle Reinjektionen mit demselben ziegenhämolytischen Serum wie in den vorigen Tabellen. Dazu wurde noch ein Tier (Nr. 50) intraperitoneal mit 0,6 ccm des ziegenhämolytischen Serums (Z in der Tabelle) und den folgenden Tag mit 0,5 ccm Hammelblut (Vollblut) intravenös injiziert, um zu sehen, mit welcher Stärke die Anaphylaxie durch diese Kombination von Antiziegenserum und Hammelblut hervortreten würde.

Um nicht die Tabelle unnötigerweise zu verlängern, führen wir nicht die Kontrolltiere auf, sondern bemerken nur hier, daß die minimale, akut tödliche (in 5 bis 15 Minuten) Dosis von den, in ganz derselben Weise bereiteten, aber Meßfehlern zufolge immer doch ein wenig ungleichwertigen Serumverdünnungen des ziegenhämolytischen Serums für Meerschweinchen von 250 bis 280 g am 2., 16., 29. April und am 14. Mai ausgetriert wurde, und folgende Werte pro 100 g Tier gefunden wurden, nämlich am 2. April 0,035 ccm, am 16. und 29. April 0,045 ccm und am 14. Mai 0,050 ccm.

Aus Tabelle V ist ersichtlich, daß Hammelsera im allgemeinen in den hier benutzten, wechselnden Dosen keinen Schutz dem toxischen Serum gegenüber leisten. Bei einigen Sera (II, Tier 36 und auch fast schwächer IV, Tier 41) kommt aber eine Schutzwirkung vor. Trotzdem Hammelblutkörperchen die toxische Substanz in vitro adsorbieren, schützt eine so große Menge wie 0,5 ccm Hammelblut gegen die 24 Stunden später gegebene einfache tödliche Dosis des toxischen Serums nicht; nur eine kleine Verspätung des Todes wurde hierdurch erreicht (48).

Vergleicht man die hier bei den Tieren 48 und 49 erhobenen Befunde mit denen bei den seruminjizierten Tieren und mit der S. 326 mitgeteilten Versuchsreihe, wo von zwei Parallelserien Meerschweinchen die eine mit reinem Hammel-

serum, die andere mit demselben Serum, aber mit 2% Hammelblutkörperchen versetzt, injiziert wurden und wo die beiden Serien bei späteren toxischen Seruminjektionen sich ganz gleich verhielten, so bekommt man den Eindruck, daß der Schutzwert der Blutkörperchen in vivo sehr unbedeutend ist, wenn er überhaupt existiert.

Tabelle V.

Nummer der Sera	Erste Injektion					Zweite Injektion				
	Nummer der Tiere	Gewicht der Tiere	Datum der Injektionen	Dosis des Serums ccm	Resultat	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums		Resultat
								pro Tier ccm	pro 100 g ccm	
I	34	240	1. IV.	2,0	Kurzatmig	2. IV.	240	0,084	0,085	Tot in 16 Min. Typ. Anaphylaxie
	35	300	1.	1,0	do.	2.	300	0,105	—	" " 10 " " "
II	36	310	15. IV.	1,0	do.	16. IV.	290	0,130	0,045	Kurzatmig. Überlebt
	37	240	15.	0,2	Keine Symptome	16.	240	0,108	"	Tot in 20 Min. Typ. Anaphylaxie
III	38	270	28. IV.	2,0	Kurzatmig	29. IV.	280	0,126	"	" " 10 " " "
	39	240	28.	0,5	Keine Symptome	29.	230	0,103	"	" " 12 " " "
IV	40	280	28.	0,1	do.	29.	270	0,121	"	" " 14 " " "
	41	270	28.	2,0	Kurzatmig	29.	260	0,117	"	" " 75 " " "
V	42	270	28.	0,2	Keine Symptome	29.	270	0,121	"	" " 15 " " "
	43	250	28.	2,0	Kurzatmig	29.	230	0,103	"	" " 10 " " "
VI	44	280	28.	0,2	Keine Symptome	29.	280	0,126	"	" " 7 " " "
	45	350	13. V.	1,0	do.	14. V.	350	0,175	0,050	" " 15 " " "
Bl	46	320	13.	0,2	do.	14.	320	0,160	"	" " 12 " " "
	47	350	13.	0,05	do.	14.	340	0,170	"	" " 12 " " "
Z	48	310	13.	0,5	Unruhe	14.	310	0,155	"	" " 45 " " "
	49	350	13.	0,1	Keine Symptome	14.	360	0,180	"	" " 7 " " "
	50	200	12.	0,6 i. p.	Unruhe	14.	200	0,5		Starke Dispnoe; überlebt

Daß die in Tabelle V angegebenen, gestorbenen Tiere durch die toxische Wirkung des ziegenhämolysischen Serums verendet sind und nicht aus einer Anaphylaxie, die durch Zusammenwirken vom Antigen in Hammelsera und den 24 Stunden später injizierten Antikörpern hervorgerufen ist, ist aus den folgenden Verhältnissen deutlich. Hätte ein solches Zusammenwirken von Antigen und Antikörper Anaphylaxie bewirkt, so würde diese sich der toxischen Wirkung des ziegenhämolysischen Serums addiert haben und dadurch wären die Tiere natürlich viel schneller gestorben, als wenn der Tod nur von dem einen Faktor, der Toxizität, bedingt wäre. In der Tabelle sehen wir indessen, daß die Tiere (36, 41 und 48 ausgenommen) in genau der-

selben Zeit starben wie die Kontrolltiere. Weiter würde bei den kleinen Normalserumdosen die Anaphylaxie, wenn überhaupt, ausbleiben, bei den größeren dagegen deutlich hervortreten. Hier sehen wir dagegen in den Fällen, wo die Tiere überlebten resp. später als die Kontrolltiere starben, daß es umgekehrt ist, daß es also gerade die, mit den größten Normalserumdosen injizierten Tiere, besser widerstehen als die anderen (37, 42), die kleine Mengen von denselben Sera erhalten haben. Dazu kommt noch, daß z. B. bei Serum VI die injizierte Normalserummenge augenscheinlich ohne jede Einwirkung auf die Sterblichkeit gewesen ist. Vor allem ist es aber aus dem Versuch bei Tier Nr. 50 deutlich, daß die hier angewandte Kombination von Antiziegenserum und Hammelblut in den angewandten Dosen — selbst mit 0,6 ccm des Antiziegensersums (d. h. 6 mal die intravenös tödliche Dosis) intraperitoneal — keine tötende Anaphylaxie hervorruft.

Diejenigen Tiere, die unter Innehalten der hier benutzten Versuchsanordnung überhaupt sterben, sterben deshalb nicht durch Anaphylaxie, hervorgerufen durch Hammelnormalserum und Hammelantikörper im Antiziegenserum, sondern durch die Toxizität des Antiserums; und daß, wie wir einigemal gesehen haben, Tiere widerstehen, rührt davon her, daß die toxische Substanz in solchen Fällen neutralisiert worden ist. — In unserer vorigen Arbeit berichteten wir über ein hammelhämolytisches Ziegenserum¹⁾ und über ein ziegenhämolytisches Hammelserum, die beide in Dosen von bis 5 ccm intravenös von Meerschweinchen gut vertragen wurden. Einigen derjenigen Tiere, die so behandelt worden waren, wurden 6 Tage später die einfache, anderen die doppelte akut tödliche Dosis des immer angewandten, hochtoxischen ziegenhämolytischen Kaninchenserums intravenös einverleibt, wonach sich zeigte, daß diese starben, jene aber keine anaphylaktischen Symptome zeigten und also überlebten. Da es demnach deutlich war, daß in diesen Versuchen ein Schutz gegen die einfache tödliche Dosis bestand, und da dieser Schutz ebensogut von den Sera selbst als von in ihnen befindlichen Antikörpern abhängen konnte, haben wir teils den Schutzwert des ebengenannten ziegen-

¹⁾ Diese Zeitschr. 61, 24.

hämolytischen Hammelserums in verschiedenen Dosen untersucht, wobei wir bei einer Reihe von Tieren die Reinjektionen den folgenden Tag, bei einer anderen den 6. Tag nach den Erstinjektionen machte, teils ist auch ein Hammelnormals Serum in derselben Weise geprüft worden.

In der folgenden Tabelle VI, wo diese Versuche zusammengestellt sind, ist das ziegenhämolytische Hammelserum als Serum VII bezeichnet und das normale Hammelserum als Serum VIII. Beide waren inaktiviert. Das Schaf, von dem das Serum VII stammt, hatte während einer Periode von 12 Tagen zusammen 160 ccm Ziegenblutkörperchen erhalten; die letzte Injektion (von 100 ccm Blutkörperchen intraperitoneal) wurde 7 Tage vor derjenigen Blutentnahme gegeben, durch die wir das hier benutzte Serum gewannen.

Die Reinjektionen geschahen mit dem ziegenhämolytischen Kaninchenserum wie überall in den vorigen Tabellen und die minimal, akut tödliche Dosis der Serumverdünnung wurde zu 0,040 ccm per 100 g ausstitriert.

Tabelle VI.

Nummer der Sera	Erste Injektion					Zweite Injektion				
	Nummer der Tiere	Gewicht der Tiere	Datum der Injektionen	Dosis des Serums ccm	Resultat	Datum der Injektionen	Gewicht der Tiere	Dosis des Serums		Resultat
								pro Tier ccm	pro 100 g ccm	
VII	51	320	9. IV.	2,0	Keine Symptome	15. IV.	320	0,128	0,040	Keine Symptome
	52	320	9.	2,0	do.	15.	320	0,128	"	" "
	53	330	9.	0,4	do.	15.	310	0,124	"	Schwere Dyspnoe; Zuckungen; überlebt
	54	290	9.	0,1	do.	15.	310	0,124	"	Tot in 40 Min. Ein wenig der Injektionsflüssigkeit kam außerhalb der Vene
	55	290	14. IV.	2,0	do.	15.	270	0,108	"	Tot in 40 Min. Typ. Anaphylaxie
	56	290	14.	0,4	do.	15.	280	0,112	"	" "120 " " "
	57	290	14.	0,1	do.	15.	300	0,120	"	" "120 " " "
VIII	58	270	9. IV.	2,0	do.	15.	290	0,116	"	Atmungsschwierigkeiten. Tot in 3 1/2 St. Typ. Anaphylaxie
	59	260	9.	2,0	do.	15.	260	0,104	"	Atmungsschwierigkeiten. Überlebt
	60	290	9.	0,2	do.	15.	300	0,120	"	Tot in 3 Min. Typ. Anaphylaxie
	61	290	9.	0,2	do.	15.	290	0,116	"	" "20 " " "
	62	280	14. IV.	2,0	do.	15.	270	0,108	"	" "30 " " "
	63	260	14.	0,2	do.	15.	250	0,100	"	" "15 " " "

Nachdem wir aus diesen Versuchen gesehen hatten, daß nicht nur beim Serum VII, sondern auch beim Normals Serum VIII die Schutzwirkung stärker hervortritt, wenn man am 6. Tag anstatt am folgenden Tag nach den Erstinjektionen die Reinjektionen macht, machten wir noch zwei Versuchs-

serien, um zu sehen, wie die Entwicklung dieser Schutzwirkung vor sich geht, und ob vielleicht zu irgendeinem Zeitpunkte die Antianaphylaxie stärker ist, so daß mehrere tödliche Dosen von den behandelten Meerschweinchen vertragen werden können. Hierzu benutzten wir teils ein normales, inaktiviertes Hammelserum, teils dasselbe Serum mit gewaschenen Hammelblutkörperchen versetzt. Da verschiedene Normalhammelsera, wie wir oben gesehen haben, betreffs ihrer Schutzwirkung nicht gleichwertig sind, haben wir die ganze Versuchsreihe mit demselben Serum und demselben blutkörperchenhaltigen Serum ausgeführt, wobei beide Flüssigkeiten im Eisschranke steril aufbewahrt wurden. Von zwei Serien, ungefähr gleich schweren Meerschweinchen (250 bis 300 g) wurden während 8 Tage jeden Tag ein (oder zwei) Meerschweinchen mit dem reinen Serum und ein (oder zwei) mit dem blutkörperchenhaltigen injiziert. Am 9. Tage wurden die Reinjektionen gemacht. Diese wurden alle mit einer und derselben Verdünnung des gewöhnlichen ziegenhämolysischen Kaninchenserums vorgenommen, nachdem zuerst die minimale, akut tödliche Dosis der Verdünnung pro 100 g Meerschweinchen von 250 auf 300 g ausstituiert worden war.

Einigen Tieren aus verschiedenen Injektionstagen der beiden Parallelserien wurde nun die doppelte tödliche Dosis gegeben; sie starben alle, die anderen, die nur die einfache tödliche Dosis bekamen, verhielten sich folgendermaßen:

Diejenigen Meerschweinchen, die den vorigen Tag erstinjiziert waren, erlagen anaphylaktisch. Ganz so wie wir es in Tabelle V bei den Sera I, III, V und VI gesehen haben; die vor 2 Tagen erstinjizierten Tiere vertrugen dagegen die Reinjektionen ohne jegliche Symptome; auch die vor 3, 4, 5, 6 und 7 Tage erstinjizierten überlebten, wenn auch einige leichte anaphylaktische Symptome zeigten; von den vor 8 Tagen erstinjizierten hatte das eine schwere Respirationsbeschwerden und Zuckungen, überlebte jedoch, während das andere mit typischen, anaphylaktischen Symptomen nach 2 Stunden starb. In den beiden Parallelserien verhielten sich die Tiere hierbei gleich, und es war also einerlei, ob die Tiere mit reinem Hammelserum oder mit 2% blutkörperchenhaltigem Serum behandelt worden waren.

Wir möchten nur hinzufügen, daß in genau in derselben Weise ausgeführten Versuchen, wo wir anstatt Hammelserum Schweineserum und Meerschweinchenserum verwandten, gar keine Wirkung bei diesen beiden Serumarten hervorgerufen wurde, sondern die hiermit behandelten Tiere starben gleich schnell wie die Kontrollen.

Die mit den Hammelsera erhaltenen Ergebnisse führten uns zu weiteren Versuchen mit Sera von Meerschweinchen, die gegen Hammelblut immunisiert worden waren. Bevor wir die oben beschriebenen Resultate besprechen wollen, möchten wir deshalb zuerst über die Schutzwirkung solcher Meerschweinchensera (Serumtypus 3) berichten.

Serumtypus 3. Schutzwirkung von Sera, die aus mit Hammelblut immunisierten Meerschweinchen stammen. Nachdem wir also gesehen hatten, daß Meerschweinchen, bei denen z. B. 1 ccm Hammelserum injiziert war, der tödlichen Dosis des toxischen Serums widerstanden, wenn man nicht früher als den 2. Tag und nicht später als den 7. Tag nach der Injektion des Hammelserums das toxische Serum einverleibte, war es naheliegend zu prüfen, ob man entweder durch wiederholte Hammelserum- oder Hammelblutinjektionen — also durch ein Vorgehen wie beim Immunisieren — auch bei Meerschweinchen es so weit zu bringen vermochte, daß ihr Serum Schutzwirkung besäße und daß es deshalb gelänge, durch ihr Serum andere Tiere zu schützen, oder ob durch solche wiederholten Hammelserum- oder Blutinjektionen ein höherer Grad von Schutz, z. B. gegen die 10fache Dosis oder mehr, bei so behandelten Tieren erreicht werden konnte.

Ein altes hammelhämolytisches Meerschweinchenserum, dessen hämolytischer Titer 0,001 war, wurde in Dosen von 1 ccm bei einem Meerschweinchen intravenös injiziert. Den nächsten Tag bekam das Tier auch intravenös die minimal akut tödliche Dosis des toxischen ziegenhämolytischen Kaninchenserums, ohne krankhafte Symptome aufzuweisen. Es gelingt also, durch solches Serum den Schutz zu bewirken. Hängt diese Schutzwirkung wie bei Kaninchensera von Antikörpern — anaphylaktischen Reaktionskörpern — ab, so ist zu erwarten, daß diese Antikörper auch hier wie dort von

normalen Meerschweinchenorganen absorbiert werden, und daß also beim Digerieren von diesem Serum mit z. B. normalen Meerschweinchennieren die Schutzwirkung des Serums verschwindet.

Da ein Meerschweinchen selbst aber der Spender des schützenden Serums ist, muß man hierbei zwar voraussetzen, daß die eigenen Organe mit den eventuellen Antikörpern während des Immunisierungsprozesses allmählich gesättigt werden, und daß deshalb die eigenen Organe, wenn man sie zusammen mit dem eigenen Serum nach der Entblutung des Tieres mischt, keine Antikörper aus dem Serum adsorbieren können. Wir immunisierten nun ein Meerschweinchen mit Hammelblut, und da dessen Serum einen hämolytischen Titer von 0,001 ccm gegen Hammelblut hatte, entbluteten wir das Tier und entnahmen außerdem aseptisch dessen Nieren.

1 g (die ganze Niere wog 1,5 g) von einer solchen Niere und ebensoviel von einer Niere eines normalen Meerschweinchens wurden in je 3 ccm des hämolytischen Meerschweinchenserums zermahlen und während $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° digeriert, dann scharf zentrifugiert bis die obenstehenden Flüssigkeiten ganz hell waren. Mit 1,6 ccm von jeder Flüssigkeit wurde nun je ein Meerschweinchen injiziert und gleichzeitig ein drittes Meerschweinchen mit 1,5 ccm reinem Serum, um zu beweisen, daß dies tatsächlich Schutzwirkung besaß. Bei den Reinjektionen am folgenden Tage mit der minimalen, akut tödlichen Dosis des toxischen ziegenhämolysischen Serums überlebten alle drei, während die Kontrolltiere, die ohne Vorbehandlung dieselbe Dosis des toxischen Serums erhielten, akut starben. Dabei beobachteten wir, daß dasjenige Tier, das die Erstinjektion von mit der eigenen Niere behandeltem Serum bekommen hatte, gar nicht krank, die beiden anderen aber ungefähr in demselben Grade unruhig und schnellatmend wurden¹⁾.

Da das Serum von mit hammelblutimmunisierten Meer-

¹⁾ Aus den Versuchen von Forssman und Hintze (diese Zeitschr. 44, 343) ist es bekannt, daß schon 0,5 ccm einer Meerschweinchen-nierenemulsion 4:10 genügt, eine tödliche Serumdosis zu adsorbieren. Hieraus ist deutlich, daß die oben benutzte Nierenmenge reichlich zugemessen war, um eventuelle Antikörper zu adsorbieren.

schweinchen, wie wir oben gesehen haben, andere Meerschweinchen zu schützen vermag, schien es uns höchst wahrscheinlich, daß die immunisierten, Schutzserum spendenden Tiere selbst mehrere tödliche Dosen des toxischen Serums vertragen würden. Merkwürdigerweise ist dies aber nicht der Fall, wie die folgenden Versuche lehren.

Drei Meerschweinchen wurden mit je 2 ccm Hammelvollblut 2mal im Abstand von 7 Tagen injiziert und am 11. Tag nach der letzten Injektion wurde jedem die doppelte, akut tödliche Dosis des toxischen Serums intravenös gegeben. Alle starben dabei, zwei nach 2 resp. 3 Minuten, das dritte aber erst nach 3 Stunden. Ein gleichzeitig immunisiertes Meerschweinchen hatte am Reinjektionstag einen hämolytischen Titer von 0,001 ccm, wodurch es wahrscheinlich ist, daß auch die drei anderen reinjizierten Tiere Hammelantikörper hatten, was außerdem bei dem einen Reinjektionstier, das in 3 Minuten erlag, direkt bewiesen wurde; sein Serum wurde nämlich geprüft und hatte einen Titer von beinahe 0,001 ccm.

Wenn wir diese dem Serumtypus 3 zugehörigen Versuche überblicken, so ist aus ihnen ersichtlich, daß Serum von mit Hammelblut immunisierten Meerschweinchen Schutzwirkung hammelhämolytischem toxischem Kaninchenserum gegenüber besitzt, daß diese Schutzwirkung nicht durch Meerschweinchenorgane in vitro adsorbiert wird und daß die immunisierten Tiere, deren Serum, bei anderen Tieren in Dosis von z. B. 1 ccm bis 1,5 ccm injiziert, diese schützen, selbst nicht einmal der doppelten, akut tödlichen Dosis widerstehen.

Nunmehr soll die Schutzwirkung der Hammelsera unter Hinweis auf die Versuche zu Serumtypen 2 und 3 näher besprochen werden.

Aus der Tabelle V ist ersichtlich, daß normale Hammelsera nur im Ausnahmefall gegen das 24 Stunden später injizierte, toxische Antihammel-(Ziegen-)Serum Schutz gewähren und daß sie also im allgemeinen unter diesen Verhältnissen Schutzwirkung nicht ausüben. Werden aber die toxischen Reinjektionen vertagt, und reinjiziert man anstatt 24 Stunden nach den

Erstinjektionen 6 Tage nach derselben, so erweist es sich, daß die Normalhammelsera doch regelmäßig schützen (Tabelle VI), und wenn man die Entwicklung der so hervorgerufenen Resistenz untersucht, so findet man, daß sie schon nach 48 Stunden ihren Höhepunkt erreicht, und daß sie sich mit ungefähr gleicher Stärke noch 5 Tage erhält, um allmählich herunterzugehen.

Die Resistenz steigt bei dem hier benutzten toxischen Serum nie bis zu der doppelten tödlichen Dosis, kommt aber diesem Werte nahe.

Den 8. Tag ist sie so weit gesunken, daß die Tiere die einfache tödliche Dosis nicht mehr vertragen können, sondern davon sterben, wenn auch bedeutend später als die Kontrolltiere.

Wie soll man nun diesen, nach 24 Stunden fehlenden, aber nach 48 Stunden vorkommenden Schutz deuten? Sicher nicht als das Resultat entwickelter Antikörper. Hiergegen spricht nämlich entschieden, daß der Schutz schon so früh seine volle Stärke erreicht, während ja die Antikörper, wie es aus den in der Literatur in großer Menge mitgeteilten Antikörperkurven bekannt ist, nach einem ganz anderen Plan produziert werden.

Diese Schutzwirkung, die außer Hammels serum wahrscheinlich auch dem normalen Ziegenserum zukommt, haben wir als eine Antigenwirkung aufgefaßt. Dabei haben wir uns die Sache so gedacht, daß das Antigen im Tierkörper eine Umarbeitung, ein Aufschließen erfährt, und daß diese Bearbeitung nicht in 24 Stunden, sondern erst später so weit fortgeschritten ist, daß die mit dem Serum reagierenden Produkte ausgebildet sind. Gibt man große Antigendosen, so entstehen natürlich solche Produkte in größerer Menge als nach kleinen Antigendosen, und da die Zerfallsprodukte allmählich eliminiert, sezerniert werden, wird der Schutz bei kleinen Antigendosen geringer und voraussichtlich auch kurzdauernder als bei größeren (siehe Tabelle VI).

Daß einige wenige Sera (Tabelle V) doch schon nach 24 Stunden die Tiere schützen, beruht wahrscheinlich darauf, daß die Umarbeitung des injizierten Serums da schneller als gewöhnlich abgelaufen ist; ob nun dies von der Art des Serums oder von Verschiedenheiten der Meerschweinchen abhängt, ist ungewiß.

Die Verhältnisse waren ganz dieselben, ob die Tiere entweder mit reinem Serum oder mit Serum, versetzt mit 2^o/_o Blutkörperchen, injiziert waren. Wir sehen, daß selbst 0,5 ccm Vollblut nicht gegen die einfache, 24 Stunden später gegebene, akut tödliche Serumdosis schützte (Tabelle V, 48).

Nun ist aber von allen Seiten bestätigt worden, daß die Toxizität eines Antihammel-Kaninchen-serums für Meerschweinchen durch Hammelblut in vitro absorbiert wird, und selbst wenn man die Mischungen von Hammelblut und Antihammel-Kaninchen-serum injiziert, treten, vorausgesetzt, daß die quantitativen Verhältnisse passend sind, keine Vergiftungserscheinungen ein, wie Friedberger-Castelli¹⁾ gezeigt haben.

Wenn dagegen zuerst das Hammelblut, dann das toxische Serum bei Meerschweinchen injiziert wird, und dabei die Substanzen also keine Gelegenheit haben, sich in vitro, sondern erst in corpore zu verbinden, so tritt keine Neutralisation ein, falls man binnen 24 Stunden die toxischen Seruminjektionen macht. Friedberger-Castelli²⁾ geben allerdings an, daß sie eine Neutralisation bei sehr kurzem Abstand zwischen Blut- und Seruminjektionen gesehen haben; daß aber die von ihnen in diesem Punkte erhaltenen Resultate auf Versuchsfehlern beruhen, ist sicher. Zwar ist es wahr, daß nach Injektionen von toxischen Antihammel-Kaninchen-sera Variationen betreffs der krankhaften Erscheinungen selbst bei mit denselben Dosen injizierten Meerschweinchen beobachtet werden; daß aber, wie bei Friedberger-Castelli, das eine Tier (Versuch 206) ohne Symptome überlebt, während das andere (Versuch 205) in 36 Minuten und das dritte (Versuch 204) in 8 Minuten nach denselben toxischen Serumdosen sterben, kommt nur nach Fehlinjektionen oder ähnlichem zustande, das können wir aus eigener Erfahrung versichern. So große Variationen in der Wirkungsweise eines Serums existieren nicht, sondern, wie schon gesagt ist, die Sera wirken mit einer ausgezeichneten Präzision.

Indessen haben wir auch experimentell geprüft, ob wirklich, wie Friedberger-Castelli angeben, Erstinjektionen von Antigen (Hammelblut) kurz nachher gegebene toxische Serum-

¹⁾ Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 6, 68.

²⁾ Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 6, 70. Die Tabelle IX stimmt nicht mit den Versuchsprotokollen!

injektionen zu neutralisieren vermögen. Zu diesem Zwecke wurden Meerschweinchen von 300 g mit Hammelblut intravenös injiziert. Dazu benutzten wir teils wie Friedberger-Castelli 1 ccm einer 5%igen, teils 0,5 ccm einer 50%igen Aufschwemmung. 2 Minuten später wurden die so behandelten Tiere je mit der minimalen, akut tödlichen Dosis des toxischen Serums injiziert, wonach alle ebenso schnell wie die nicht vorbehandelten Kontrolltiere starben. Es kommt demnach unter solchen Bedingungen keine Neutralisation vor, wie schon oben gesagt ist.

Das Antigen ist also vom Tierkörper umgearbeitet worden, neutralisiert, wie wir nachgewiesen haben, d. h. wahrscheinlich verbindet es sich mit dem toxischen Antikörper. Kommen aber Antigen und Antikörper in großen Mengen gleichzeitig im Tiere vor, was durch große Injektionen erreicht werden kann, so tritt allerdings eine Neutralisation von einer geringen Menge des toxischen Antikörpers ein, aber die Neutralisation wird dann dadurch verborgen, daß andere Antigen- und Antikörpermengen Anaphylaxie auslösen, ganz so wie bei der gewöhnlichen Anaphylaxie, wo wir durch kleine Dosen Antigen Antianaphylaxie, durch große Dosen den anaphylaktischen Chok erhalten. So verstehen wir, daß mit Hammelblut immunisierte Meerschweinchen, die große Mengen von bearbeitetem Antigen enthalten, nicht einmal die doppelte tödliche Dosis vertragen können. Und doch schützt eine geringe Menge (1 bis 1,5 ccm) ihres Serums ein anderes frisches Meerschweinchen vor der einfachen tödlichen Serumdosis.

Wir möchten noch mit einigen Worten das Hammelserum VII (Tabelle VI) hervorheben. Dies Serum stammt von einem Schafe, das mit Ziegenblut immunisiert worden ist. Wenn das Schaf nun das Ziegenblut ungefähr so verarbeitet wie die Meerschweinchen das Hammelblut — was natürlich erst untersucht werden muß —, so sollte dies Serum neben seinem Hammelantigen auch umgearbeitetes Ziegenserum besitzen. Als eine Äußerung dieses Antigens können wir vielleicht die Erscheinung deuten, daß dieses Serum in Dosen von 0,4 ccm und selbst in 0,1 ccm bei 24 Stunden später ausgeführten toxischen Reinjektionen den Tod so verspätet, wie wir es in der Tabelle VI sehen. In bezug auf die Schutzwirkung nach 6 Tagen stimmt dies Serum mit

anderen Hammelsera vollständig überein, nur daß der Schutz hier vielleicht ein wenig mehr ausgesprochen ist.

Serumtypus 4. Betreffs der Schutzwirkung von normalen Kaninchensera verweisen wir auf unsere hierüber oben mitgeteilten Ergebnisse.

Serumtypus 5. Die Schutzwirkung des Serums vom Tier, das sowohl Hammelantigen wie Hammelantikörper entbehrt. Als Beispiel haben wir die Ratte gewählt; durch Rattenorganinjektionen ist es bis jetzt niemand¹⁾ gelungen, Hammelantikörper bei Kaninchen über die normalen Schwankungen zu erzeugen, und in hierauf gerichteten Versuchen haben wir nicht vermocht, Hammelantikörper, speziell Hammelhämolyisin (bis in Dosen von 0,4 ccm, mit Meerschweinchen-serum als Komplement) nachzuweisen²⁾.

Zwei Meerschweinchen wurden nun mit je 2 ccm Ratten-serum injiziert und den Tag nachher mit der minimal akut tödlichen Dosis unseres toxischen Ziegenserums injiziert, wie in der Tabelle VII gezeigt wird. Die so injizierten Tiere (Nr. 64 und 65) starben ebenso schnell wie die Kontrolltiere, weshalb man sagen kann, daß Ratten-serum in der benutzten Dosis keine Einwirkung auf die Serumvergiftung ausübt.

Serumtypus 6. Die Schutzwirkung der Sera von Tieren, die keine Hammelantigene, aber immunisatorische Hammelantikörper besitzen, ist, soweit es Kaninchensera betrifft, schon von Friedberger-Castelli gefunden und dann ausführlich von uns untersucht. Da Kaninchensera normale Hammelantikörper enthalten und deshalb auch im normalen Zustande schützen, wollten wir auch ein solches Antihammelserum in bezug auf seine Schutzwirkung prüfen, das von einem Tiere stammte, das keine normalen Hammelantikörper hat und dessen

¹⁾ Wie wir schon in unserer vorigen Arbeit bemerkt haben, ist es unmöglich, Friedbergs und Schiffs (Berl. klin. Wochenschr. 1918, 1557) Deutung ihrer Versuche über Immunisieren mit Rattennieren zuzustimmen, wo sie sagen, daß Rattennieren zweifelsohne eine deutliche Titersteigerung (des Hammelhämolyisins) hervorrufen. In diesen Versuchen sind die Sera nicht über die normalen Variationen des Titers herausgekommen, und wie Forssman (l. c. S. 35) gezeigt hat, kommen ebenso große Schwankungen in ebenso kurzer Zeit beim normalen Tiere ohne etwaige Eingriffe aus bisher unbekannten Ursachen vor.

²⁾ Forssman und Fex, diese Zeitschr. 61.

Normalserum auch nicht schützt, nämlich die Ratte. Drei weiße Ratten wurden mit je 2 ccm Hammelblut je dreimal in wöchentlichen Intervallen intraperitoneal injiziert und 1 Woche nach der letzten Injektion entblutet. Die Sera, inaktiviert, hatten folgende hämolytische Titer für Hammelblut, nämlich: Serum II 0,003 ccm, Serum III 0,001 ccm und Serum IV 0,005 ccm. Es wurden nun Meerschweinchen mit je 2 ccm dieser Sera und andere mit Serum I, das ein Mischserum von zwei frischen, unbehandelten Ratten war, intravenös behandelt, um 24 Stunden später ziegenhämolytisches Serum zu bekommen. In Tabelle VII sind nun die Versuche zusammengestellt. Da die Reinjektionen mit derselben Verdünnung des ziegenhämolytischen Serums wie in Tabelle I ausgeführt sind, gelten die da vorkommenden Kontrollen auch hier; doch können ja auch Nr. 64 und 65 als Kontrolle dienen.

Tabelle VII.

Nr. des Tieres	Erste Injektion					Zweite Injektion				
	Datum der Injektion	Nr.d.injizierten Rattensera	Gewicht der Tiere g	Serumdosis ccm	Resultat	Datum der Injektion	Gewicht der Tiere g	Dosis des Serums		Resultat
								pro Tier ccm	pro 100 g ccm	
64	23. III.	I	280	2	Keine Symptome.	24. III.	280	0,098	0,035	Tot in 10 Min. Typ. Anaphyl.
65	23.	I	300	2	" "	24.	290	0,100	"	" " 13 " "
66	23.	II	300	2	" "	24.	290	0,100	"	Keine Symptome.
67	23.	III	300	2	" "	24.	290	0,100	"	" "
68	23.	III	270	1	" "	24.	270	0,189	0,070	Tot in 6 Min.
69	23.	III	260	1	" "	24.	260	0,091	0,035	Atmungsschwierigkeiten. Überlebt.
70	23.	IV	270	2	" "	24.	260	0,091	"	Keine Symptome.

Wenn wir diese Tabelle durchsehen, finden wir erstens, was schon oben hervorgehoben ist, daß normales Rattenserum gar nicht schützt. Weiter ist ersichtlich, daß die drei hammelhämolytischen Rattensera in den angewandten Dosen für Meerschweinchen gar nicht toxisch waren, sie schützten aber vollständig in Dosen von 2 ccm gegen die einfache tödliche Dosis. Noch in Dosen von 1 ccm schützte Serum III, aber da das Tier nach der Reinjektion schwere Symptome bekam, so ist wahrscheinlich der Untergang des Serums in bezug auf Schutzwirkung hiermit erreicht.

Betreffs der Schutzwirkung von den übrigen Antihammelsera, durch Blut- oder Organinjektionen erzeugt, weisen wir auf die Arbeiten von Friedberger-Castelli und von uns hin.

Wenn man nun die hauptsächlichsten obigen und durch frühere Untersuchungen bekannten Tatsachen betreffs der oben abgehandelten Form von Antianaphylaxie überblickt, erhält man ein Totalbild von dieser Erscheinung, dessen Grundzüge wir versuchen wollen, nachstehend zu kennzeichnen.

Bei der gewöhnlichen, wir wollen sagen klassischen, Anaphylaxie enthält ja das sensibilisierte Tier die anaphylaktischen Reaktionskörper, und die Anaphylaxie ebenso wie die Antianaphylaxie wird durch Antigeninjektionen hervorgerufen. Hier dagegen befindet sich das Antigen im Tiere, in dessen Organen, und die Anaphylaxie und Antianaphylaxie lösen die Antikörperinjektionen aus, also vollständig das Umgekehrte im Vergleiche zu der gewöhnlichen Anaphylaxie. Wir wollen deshalb diese Anaphylaxie und Antianaphylaxie als die umgekehrte bezeichnen.

Die gewöhnliche, klassische Anaphylaxie kommt wahrscheinlich dadurch zustande, daß durch das injizierte Antigen die Antikörper partiell, mehr oder weniger vollständig nach der Größe der Injektionen, abgesättigt werden. Man kann in dieser Weise Resistenz gegen spätere Injektionen von 100 mal und mehr der für sensibilisierte Tiere sicher tödliche Antigendosis bekommen. Bei der umgekehrten Antianaphylaxie, die wahrscheinlich auch auf einer Sättigung zwischen Antigen und Antikörper beruht, steigt dagegen die Resistenz der anaphylaxieauslösenden Substanz gegenüber nie hoch, soweit unsere Erfahrung geht kaum bis zur doppelten, akut tödlichen Dosis, und da das Antigen sich hier überall in den Organen befindet, würden für eine umfassende Sättigung so große Antikörperdosen nötig sein, daß das Tier viel früher stürbe. Wahrscheinlich werden bei dieser Antianaphylaxie nur das am meisten avide oder in den empfindlichsten Organen befindliche Antigen gesättigt; steigt die Antikörperkonzentration im Blute durch Antikörperinjektionen weiter, so treten so große Antigenmengen in Reaktion mit den Antikörpern, daß der anaphylaktische Chok auftritt.

Die umgekehrte Antianaphylaxie erreicht nach intravenösen Antikörperinjektionen jedenfalls nach 24 Stunden ihre volle

Entwicklung und bleibt unverändert, wie wir oben bewiesen haben, bis sie allmählich abnimmt; also kein Parallelismus betreffs der Entwicklung dieses Zustandes und der Entwicklung von Antikörpern beim Immunisieren, wie diese in den zahlreichen, allgemein bekannten Antikörperkurven schematisch abgebildet ist.

Die gewöhnliche Antianaphylaxie scheint ja ein spezifischer Prozeß zu sein, und so scheint es auch der Fall mit der umgekehrten zu sein. Hier ist indessen die Spezifität nicht nur auf die spezifischen Antikörper beschränkt, sondern man kann auch mit dem entsprechenden Antigen die Tiere gegen die toxischen Seruminjektionen unempfindlich für die einfache, tödliche Dosis machen. Die spezifischen Antikörper erzeugen hierbei die Antianaphylaxie durch Sättigung von einem Teil des in den Organen befindlichen Antigens; wird Antigen dagegen, z. B. Hammelserum, injiziert, so werden später (betreffs der Zeiten siehe oben) gegebene Antikörper dadurch gesättigt oder, wenn wir eine gewöhnliche Benennung brauchen wollen, abgelenkt, so daß sie nicht mit dem Organantigen reagieren können.

Zuerst möchten wir nun betreffs der durch Antigene (Hammelsera) hervorgerufenen Resistenz Antihammel-Kaninchensera gegenüber auf das eigentümliche Verhalten hinweisen, wonach die Hammelsera (Antigene) im allgemeinen nur nach längerer Umarbeitung im Tierkörper ihre Schutzwirkung ausüben. (Die ausführliche Darstellung hiervon ist oben unter Serumtypus 2 und 3 zu finden.)

Um dann die durch Antikörper — anaphylaktische Reaktionskörper — hervorgerufene umgekehrte Antianaphylaxie näher zu besprechen, so haben wir gesehen, daß solche Antikörper auch in normalen Kaninchensera, wenn auch in wechselnder Menge, vorkommen. Deshalb kann man auch mit diesen Sera antianaphylaktisieren. Andere Normalsera z. B. von Pferd, Ratte, Ochs und Meerschweinchen (abgesehen von denjenigen Sera, die Hammelantigen enthalten, wovon schon oben gesprochen ist) schützen dagegen nicht.

Der Gehalt des normalen Kaninchenserums an diesen anaphylaktischen Reaktionskörpern ist ferner die Ursache davon, daß, wie wir in einigen Versuchen gesehen haben, alle möglichen Antisera aus Kaninchen, Antianaphylaxie Antihammelsera

gegenüber bewirken; man würde hierdurch leicht veranlaßt werden, an die Spezifität der umgekehrten Antianaphylaxie zu zweifeln, wüßte man nicht, daß die normalen Kaninchensera diese Eigenschaft besaßen.

Im Normalserum ist die Menge derjenigen Substanz, der die Schutzwirkung zukommt, gering und man muß deshalb von Normalkaninchensera relativ große Quantitäten, z. B. 1 bis 3 ccm anwenden, um zu antianaphylaktisieren. Dasselbe ist auch der Fall mit anderen Antisera aus Kaninchen als Antihammel- und Antiziegensera. Jene Antisera schützen ja, wie oben hervorgehoben ist, wegen ihres Gehaltes an normalen anaphylaktischen Reaktionskörpern nicht wegen während des Immunisierungsprozesses neugebildeter, und sind deshalb in dieser Hinsicht an die Seite der Normalsera zu stellen.

Durch Immunisieren mit Hammel- und Ziegenblut nimmt dagegen die schützende Substanz in solchem Grade zu, daß, wie oben gezeigt worden ist, selbst 0,001 ccm pro 100 g Tier genügt, die Antianaphylaxie hervorzurufen.

Ob man auch bei solchen Tieren, welche unter normalen Verhältnissen schützende resp. die umgekehrte Antianaphylaxie erzeugende Substanz entbehren, wie z. B. Ratten und Meerschweinchen, durch Immunisieren mit Hammel- resp. Ziegenblut diese Substanz erhalten kann, das können wir nicht sagen. Wir haben allerdings gefunden, daß Meerschweinchen- und Rattensera von mit Hammelblut immunisierten Tieren in Dosen von 1 ccm, anderen Meerschweinchen injiziert, Schutz brachten (siehe Serumtypus 3 und 6), und anfangs glaubten wir auch, daß es hierbei Antikörper waren, von denen die Schutzwirkung abhing; durch eine gründlichere Untersuchung dieses Verhältnisses bei Meerschweinchen (Serumtypus 3) sind wir aber dahin gekommen, daß wir jedenfalls die Schutzwirkung der Sera von mit Hammelblut immunisierten Meerschweinchen als Folge von in den Sera befindlichen Antigenresten betrachten. Wie es sich aber mit den entsprechenden Rattensera verhält, haben wir nicht untersucht. Es kann sein, daß es auch hier Antigenreste sind, die schützen; vielleicht sind es doch Antikörper.

In diesem Zusammenhange ist es sehr naheliegend, zu fragen, ob denn die Schutzwirkung der Sera von mit Hammel-

blut immunisierten Kaninchen wirklich auf Antikörpern beruht oder ob auch sie von Antigenresten abhängt. Um diese Frage beantworten zu können, müssen wir folgende Tatsachen berücksichtigen. Erstens folgt die Schutzwirkung bei Bindungsversuchen in vitro vollständig der toxischen Substanz, mit der sie aller Wahrscheinlichkeit nach identisch ist. Beim Digerieren mit Hammelblut und Meerschweinchenorganen (Nieren) wird sie also von diesen adsorbiert, nicht aber von Meerschweinchenblut, Ochsenblut oder Ochsenmieren. Stellen wir dieselben Bindungsversuche mit Sera an, die Antigenreste enthalten, so sehen wir dagegen, daß die Schutzwirkung solcher Sera nicht von Hammelblut oder Meerschweinchenorganen vermindert oder adsorbiert wird. Dazu kommen die quantitativen Verhältnisse. Aus den unter Serumtypus 2 erwähnten Versuchen ist ersichtlich, daß betreffs der Schutzwirkung reines Hammelserum und dasselbe Serum, mit 2% Hammelblutkörperchen versetzt, sich ganz gleich verhielten, und daß also der Blutkörperchengehalt der Hammelsera ohne auffallende Bedeutung war. Ebenda (Tabelle VI) finden wir, daß nach einer Injektion von 0,2 ccm Hammelserum 6 Tage später kein Schutz besteht, dazu muß man größere Serummengen benutzen. Wenn wir nun erfahren, daß das serumspendende Kaninchen von 2 kg Gewicht während einer Woche nur 17 ccm Hammelvollblut erhalten hatte, und überlegen, welches geringe Quantum von Hammelblut auf jeden Kubikzentimeter Kaninchenblut kommt, so wird es uns unmöglich, anzunehmen, daß genug Antigen in 0,003 ccm Serum vorkäme, um ein Meerschweinchen von 300 g zu schützen. Sowohl aus den Bindungsverhältnissen wie aus diesen quantitativen Verhältnissen scheint es uns deshalb bewiesen, daß es sich hier um Antikörper — nicht um Antigenschutzwirkung handelt.

Welchen Antikörpern kommt nun die Schutzwirkung und damit auch die Toxizität zu?

Ganz natürlich denkt man zuerst daran, ob diese Eigenschaften einem der schon bekannten Antikörper gehören, bevor man dazu geht, neue Antikörper hierfür anzunehmen; hier war es sehr naheliegend, die Hammelhämolysine heranzuziehen.

Die oft vorkommende und von allen Seiten bestätigte Inkongruenz zwischen Hämolysingehalt und Toxizität bei den

homologen Hammelantisera und speziell die Übereinstimmung in diesem Punkte zwischen den homologen und den von Forssman und Hintze zuerst betreffs dieses Verhältnisses untersuchten heterologen hammelhämolytischen Sera verbietet die Annahme, daß die Toxizität durch die Hammelhämolsine veranlaßt wäre. Forssman und Hintze sagen (S. 341) auch ausdrücklich, daß „die Toxizität der Sera“ (heterologen Sera) „nicht auf deren Gehalt an Ms.-Schafhämolysin beruht“ (als Ms.-Schafhämolysin wird durch Meerschweinchenorganinjektionen hervorgerufenes Hammelhämolysin bezeichnet).

Forssman und Hintze (Seite 347) suchten deswegen in den heterologen Sera nach Präcipitinen, um dadurch die Erklärung möglicherweise für die Toxizität zu finden, aber ohne Erfolg. Es blieb dann nichts übrig, als bis auf weiteres die Toxizität besonderen Antikörpern zuzuschreiben.

Vor kurzem sind nichtsdestoweniger Friedberger und Goretti¹⁾ mit der Behauptung hervorgetreten, daß Forssman durch den Antikörpergehalt, und damit meinen Friedberger und Goretti, wie aus ihrer Arbeit ersichtlich ist, die Hämolsine, die Toxizität erklärt. Eine solche Bedeutung habe ich (Forssman) den Hämolsinen nie beigelegt, nie so was gedacht, noch weniger gesagt. Wenn deshalb Friedberger und Goretti gegen mich (Forssman) in diesem Punkte polemisieren, schweben ihre Argumente ganz in der Luft.

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 21. Es ist uns übrigens unverständlich, in welcher Weise Friedberger und Goretti die Arbeit von Forssman und Hintze gelesen haben. Bei dem ungeheuren Reichtum der Literatur kommt es wahrscheinlich uns allen nicht allzu selten vor, daß wir publizierte Arbeiten übersehen; daß man aber eine Arbeit so unrichtig referiert, wie Friedberger und Goretti hier getan haben, ist doch nicht häufig. Abgesehen von dem, was oben betreffs der Abhängigkeit der Toxizität von den Hämolsinen gesagt ist, teilen die Verfasser als etwas Neues mit, daß auch bei den heterologen Antihammelsera eine Inkongruenz zwischen Hammelhämolsinen und Toxizität vorkommen kann (Seite 104), ungeachtet Forssman und Hintze (Seite 341) das schon nachgewiesen haben, und ebenso verhält es sich mit dem Befunde Friedbergers und Gorettis, nach dem „der isogenetische Antikörper sowohl durch das homologe Organ (Hammelblutkörperchen) als auch die heterogenetischen Organe (Meerschweincheniere, -herz usw.) gebunden wird, ebenso wie der heterogenetische Antikörper einerseits durch die

Wenn man also, wie wir es immer getan haben, annimmt, daß die Hammelhämolsine und die toxische Substanz verschiedene Antikörper sind, so ist es gar nicht merkwürdig, daß sie nicht parallel gehen; wir möchten nur ein Beispiel anführen, nämlich die in hammelhämolytischen Sera befindlichen Hammel- und Ochsenhämolsine, die in verschiedenen hammelhämolytischen Sera fast nie in demselben Verhältnis vorkommen.

In Friedbergers und Gorettis Arbeit finden wir dazu noch ein neues Argument für die Verschiedenheit der toxischen Substanz von den Hämolsinen, indem diese Verfasser angeben, daß es ihnen gelungen ist, die beiden Substanzen durch Fällung zu trennen. Augenblicklich haben wir demnach keine Ursache, uns von unserer alten Auffassung zu entfernen, sondern halten an ihr fest; doch sind wir uns wohl bewußt, daß vielleicht bald neue Beobachtungen kommen können, die neue Gesichtspunkte geben und neue Deutungen fordern.

Endlich wollen wir unsere hauptsächlichsten Ergebnisse zusammenzufassen:

1. Beim Austitrieren von der minimalen, Antianaphylaxie erzeugenden Dosis des hier benutzten, für Meerschweinchen hochtoxischen ziegenhämolytischen Kaninchenserums haben wir gefunden, daß sie 0,001 ccm pro 100 g Tier war und sich zu der minimalen akut tödlichen Dosis wie 1:35 verhält.

2. Diese umgekehrte Antianaphylaxie entwickelt sich schnell, hat ihren Höhepunkt nach 24 Stunden (wahrscheinlich schon früher) sicher erreicht, besteht jedenfalls 4 Tage und ist am

isogenetische Antigene, andererseits auch durch die heterogenetischen absorbiert werden kann". Sie fahren fort: „Es ergibt sich aus unserer Tabelle weiter, daß diejenigen Antigene, die eine Absorption des Amboceptors für Hammelblut bedingen, auch die Giftigkeit zu verringern imstande sind, während ein Antigen, das den hämolytischen Amboceptor nicht absorbiert, oder ihn nur minimal absorbiert, wie das Rinderblut auch die Giftigkeit unbeeinflusst läßt" (Seite 121). Das alles finden Friedberger und Goretti bei Forssman und Hintze, wo Hammel-, Schwein- und Ochsenblut samt Meerschweinchen-, Katzen-, Schwein- und Ochsenmilch betreffs ihres Bindungsvermögens sowohl homologem wie heterologem hammelhämolytischem Serum gegenüber untersucht worden sind (siehe Seite 342 und folg. bei Forssman und Hintze). Und dies ist mit keinem Worte von Friedberger und Goretti erwähnt!

7. Tage nach der sie erzeugenden Injektion nur ein wenig, aber doch deutlich heruntergegangen.

3. Sie entsteht auch nach Injektionen von normalen Kaninchensera; bei verschiedenen solchen Sera wechselt die schützende Dosis. Die in den Sera befindliche schützende Substanz wird von Meerschweinchennieren adsorbiert, ganz wie die toxische (schützende) Substanz der toxischen Antihammel-Kaninchensera.

4. Normale Hammelsera, bis in Dosen von 2 ccm geprüft, schützen Meerschweinchen nur in Ausnahmefällen gegen eine 24 Stunden später gegebene toxische Antihammel-Kaninchenserum-Injektion.

5. Wird die toxische Seruminjektion dagegen erst 48 Stunden nach der Normalseruminjektion gegeben, so schützen die Normalhammelsera dagegen regelmäßig. Diese Schutzwirkung der Normalhammelsera hat ihren Höhepunkt nach 48 Stunden erreicht, besteht ungefähr unverändert bei Injektion von 1 ccm Hammelsera noch 5 Tage und verschwindet allmählich.

6. Wahrscheinlich verhält sich normales Ziegen Serum in derselben Weise wie normales Hammelserum; Schweineserum und Meerschweinchenserum üben dagegen keine solche Schutzwirkung aus, jedenfalls nicht in denselben Dosen als Hammelsera.

7. In keinem Falle steigt der Schutz bis an die doppelte, akut tödliche Dosis des toxischen Serums.

8. Sera von Meerschweinchen, die mehrmals mit Hammelblut injiziert worden sind, schützen in einer Dosis von 1 ccm andere Meerschweinchen.

9. Ungeachtet dessen, daß ihr Serum in der genannten Dosis andere Tiere schützt, vertragen sie doch selber nicht einmal die doppelte tödliche Dosis.

10. Die Schutzwirkung der Antihammel-(Ziegen-)sera von Kaninchen ebenso wie der normalen Kaninchensera deuten wir als eine Antikörperwirkung, hierbei sind die wirksamen Antikörper aber mit den Hammelhämolysinen nicht zu identifizieren.

11. Die Schutzwirkung der normalen Hammelsera und der Meerschweinchensera von mit Hammelblut inji-

zierten Tieren fassen wir als eine Wirkung von Antigenen auf, die, im Tierkörper umgearbeitet, aufgeschlossen sind.

Nachtrag.

Aus den obenstehenden Untersuchungen sieht man, daß, wenn man bei Meerschweinchen zuerst normales Hammelserum und 48 Stunden später toxisches Antihammel-Kaninchenserum injiziert, so leben die Tiere, vorausgesetzt, daß nur die einfache tödliche Dosis (oder ein wenig mehr) gegeben wird; nimmt man dagegen z. B. zwei tödliche Dosen oder mehr, so sterben die Tiere. Wovon sterben sie denn in diesem Falle? Von einer Anaphylaxie durch Zusammenwirken von injiziertem Hammelantigen und später injizierten Hammelantikörpern, oder von einer Anaphylaxie durch das Einwirken des toxischen Serums auf die Meerschweinchenorgane? Wir haben diese Frage zu entscheiden versucht, indem wir einige Versuche angestellt haben, wo wir ein für Meerschweinchen vollständig atoxisches Antihammelserum — nämlich von Meerschweinchen stammend — benutzten. Der hämolytische Titer dieses Serums war 0,001 ccm. Vier Meerschweinchen von 280 bis 210 g wurden genommen. Von diesen wurde nun am 1. Tage eins mit 1 ccm normalem Hammelserum, ein anderes mit 1 ccm vom hammelhämolytischen Meerschweinchen Serum infiziert, am 2. Tage wurden die anderen zwei Tiere mit denselben Sera in derselben Weise behandelt. Am 3. Tage erhielten die mit normalem Hammelserum vorinjizierten Tiere je 1 ccm hammelhämolytisches Meerschweinchen Serum, und die anderen je 1 ccm normales Hammelserum (alle Injektionen intravenös). Dabei zeigten jene gar keine krankhaften Symptome, während von diesen das 24 Stunden früher mit Antihammelserum injizierte Tier in 3 Minuten anaphylaktisch starb, das 48 Stunden früher vorinjizierte sehr krank wurde, mit Atmungsstörungen, Zuckungen, aber überlebte.

Hieraus ist deutlich zu ersehen, daß die mit normalem Hammelserum injizierten Tiere weder nach 24 noch nach 48 Stunden durch Antihammelseruminjektionen anaphylaktisch erliegen, vorausgesetzt, daß man ein atoxisches Antihammelserum verwendet. Demnach müssen wir auch die hier anfangs aufgestellte Frage in der Weise beantworten, daß, da Meer-

schweinchen, die mit normalem Hammelserum erst injiziert und dann 48 Stunden später mit der doppelttödlichen Dosis eines Antihammel-(Ziegen-)Kaninchenserums reinjiziert werden, anaphylaktisch sterben, so sterben sie nicht an einer Anaphylaxie, die durch Zusammenwirken vom erstinjizierten Hammelantigen und später injizierten Hammelantikörpern hervorgerufen wird, sondern durch das Einwirken des toxischen Serums auf die Meerschweinchenorgane.

Untersuchungen über das Erepsin.

Von

S. Kobzareno.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen
Instituts der Kgl. Universität Berlin.)

(Eingegangen am 25. Juni 1914.)

Die Frage von den Eigenschaften des Erepsins ist noch sehr wenig bearbeitet, obgleich dieses Ferment im Verdauungsprozeß offenbar eine große Rolle spielt. Es gibt da sehr viele Punkte, die unaufgeklärt bleiben, nicht wenige Widersprüche, die einer klaren und präzisen Vorstellung von seinem Vorkommen in den verschiedenen Organen und seiner Wirkung unter verschiedenen Bedingungen im Wege stehen. Ich habe mich deshalb bemüht, einige dieser Fragen zu klären und möchte in folgendem über das Resultat meiner Untersuchungen berichten.

Das Erepsin gehört zu der Gruppe derjenigen Fermente, welche die bereits teilweise abgebauten Proteinsubstanzen noch weiter zerlegen. Von den andern Gliedern dieser Gruppe unterscheidet es sich durch die besondere Eigenschaft, ausschließlich auf Peptone und Albumosen zu wirken, indem es sie in Peptide und weiter in einfache Aminosäuren spaltet. Nach Lambert¹⁾ wirkt es außerdem noch auf Casein, Protamine und Histone.

Das Verdienst, dieses Ferment entdeckt zu haben, gebührt Cohnheim²⁾. Er konnte es in der Darmschleimhaut nachweisen und zeigen, daß es ein Ferment sui generis ist und völlig unabhängig von der Funktion resp. dem Sekret des Pankreas. Denn es gelang ihm, auch das Ferment aus der Darmschleimhaut solcher Tiere zu isolieren, denen er

¹⁾ Lambert, „Sur la proteol. intestin“. Coc. Biol. 55, 416, 1903.

²⁾ Cohnheim, „Umwandlung des Eiweißes durch die Darmwand“. Zeitschr. f. phys. Chem. 33, 451, 1901; derselbe, „Trypsin und Erepsin“. Zeitschr. f. phys. Chem. 36, 13, 1902.

zuvor das Pankreas exstirpiert hatte. Dieser letztere Befund war besonders wichtig, weil Vernon¹⁾, der eine Wirkung des Pankreassaftes auf Peptone erhalten hatte, annahm, er hätte es hier mit einem neuen Ferment des Pankreas zu tun. Die Entdeckung des Erepsins war deshalb so bedeutungsvoll für das Verständnis der Verdauungsvorgänge im Darm, weil man bis dahin geglaubt hatte, daß das Eiweiß im Darm nur bis zu den Albumosen und Peptonen abgebaut wird und in dieser Form zur Resorption kommt. Denn einerseits war es bisher noch nicht gelungen, Aminosäuren mit Sicherheit im Darminhalt nachzuweisen, andererseits kannte man auch im Darmchymus kein Ferment, das die Fähigkeit besitzt, Peptone weiter zu zerlegen. Mit dem Nachweis des Erepsins war aber die Möglichkeit eines weiteren Abbaues gegeben, und Cohnheim unterließ auch nicht, auf die Wichtigkeit des Erepsins für den tiefen Abbau des Eiweißes im Darm hinzuweisen.

Als Gegner der Theorie Cohnheims traten Kutscher und Seemann²⁾ auf, die wohl das Vorkommen einer dem Erepsin identischen Protease im Darm bestätigten, ihr jedoch keine besondere Bedeutung zuschrieben, weil im Darminhalt keine freien Aminosäuren vorhanden waren. Sie leugneten infolgedessen jede Bedeutung des Erepsins für die Verdauung.

Das Vorhandensein von frei sezerniertem Erepsin im Darmlumen wurde von Salaskin, auch von Hamburger und Hekma³⁾ bei der Untersuchung des reinen Dünndarssaftes konstatiert. Desgleichen konnten Wohlgemuth und Wakabayashi⁴⁾ im reinen Dickdarmsekret Erepsin nachweisen.

Umgekehrt haben Embden und Fr. Knoop⁵⁾ keine Spaltung der Peptone in einer von Trypsin freien, lebenden Darmwand eines pankreaslosen Hundes nachweisen können. An der Spezifität des Erepsins als eines Produktes der Darmwand zweifelt auch Weinland⁶⁾, obgleich er es in ganz geringer Wirkung im Schweinedarm gefunden hat, ebenso Bayliss und Starling⁷⁾, welche die Existenz eines pankreatischen

¹⁾ Vernon, „The pepton splitting ferments of the pancreas and intestine“. Journ. of phys. Chem. 50, 440, 1903.

²⁾ Kutscher und Seemann, „Z. K. d. Verd.-Vorg. im Dünndarm I und II“. Zeitschr. f. phys. Chem. 34, 530 und 35, 432, 1902.

³⁾ Hamburger und Hekma, „Sur le suc intest de l'homme. Journ. de Phys. et Path. 4, 805, 1902.

⁴⁾ Wohlgemuth und Wakabayashi, Über die Fermente in dem Sekrete des Dün- und Dickdarms. Intern. Beiträge z. Pathol. u. Ther. d. Ernährungsstörungen 2, H. 4, 1912.

⁵⁾ Embden und Knoop, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 129, 1903.

⁶⁾ Weinland, „Proteol. Wirkg. von Darmex. und d. Einfluß der Reaktion auf dieselbe. Zeitschr. f. Biol. 45, 293, 1903.

⁷⁾ Bayliss und Starling, „Prot. activ of the poner juice“. Journ. of Physiol. 30, 61, 1903.

Erepsins angenommen hatten, um die Wirkung des nicht aktivierten Darmsaftes auf Fibrin und Casein zu erklären.

Besonders interessant sind in dieser Beziehung die Beobachtungen von Langstein und Soldin¹⁾, die das Erepsin im Darm des Foetus im 5. Monat fanden. Auch dieses spricht für die Unabhängigkeit des Erepsins von dem Pankreas, weniger die Tatsache, daß auch der Darm der neugeborenen Menschen und des Kalbes Erepsin enthält. Denn hier läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden, ob nicht doch schon die Pankreassekretion am Ende der Schwangerschaft eingesetzt hat.

Fallose²⁾ erblickt im Erepsin ein für den Darm spezifisches Ferment und hält es für ein Sekret der Zotten und Lieberkühnschen Drüsen.

Wir sehen also, daß die Frage über das Erepsin noch nicht in allen Punkten genügende Klarheit zeigt — während die einen es für die Darmwand spezifisch halten, da für seine autochthone Entstehung im Darm der Umstand spricht, daß es frei ins Darmlumen sezerniert wird, negieren andere diese Spezifität oder aber messen dem Erepsin keine besondere Bedeutung im Verdauungsprozeß bei. Noch neuerdings behauptet E. Raubitschek³⁾, das Erepsin sei wohl für die Darmschleimhaut spezifisch, seine Wirkung auf die Peptone sei aber sehr begrenzt.

Was das Vorhandensein des Erepsins in anderen Organen betrifft, so sind auch da noch wenig klare und bestimmte Ergebnisse zu verzeichnen.

Es existieren nur drei Methoden, um das Vorhandensein des Erepsins in einer Lösung nachzuweisen: 1. die Biuretprobe von Cohnheim, 2. die Phosphorwolframsäuremethode von Salaskin und 3. die Formoltitration von Sörensen.

Die Biuretprobe beruht darauf, daß das Erepsin die Peptone in Peptide resp. Aminosäuren zerlegt, die keine Biurettreaktion geben, so daß der negative Ausfall dieser Reaktion die Wirkung des Erepsins angibt. Die Probe von Salaskin⁴⁾

¹⁾ Langstein und Soldin, „Über die Anwesenheit von Erepsin im Darmkanal des Neugeborenen, bzw. Foetus“. Jahrb. f. Kinderheilk. 67, 9, 1907.

²⁾ Fallose, „Distrib. et origine des f. dig. de l'intestin grêle“. Arch. intern. de Phys. 2, 299.

³⁾ Raubitschek, „Erfahrungen über das Erepsin“. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 4, 674, 1907.

⁴⁾ Salaskin, „Über d. Vork. d. Albumosen Spalt. F. in reinem Darmsaft“. Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 419, 1902.

beruht auf der Bestimmung des in der Phosphorwolframsäurefällung enthaltenen Stickstoffs und die Sörensenmethode¹⁾ auf der Bestimmung der freien Aminogruppen mittels Formaldehyd und Barythydrat.

Für zahlreiche Untersuchungen kann man besser die einfache Biuretprobe benutzen, da die beiden anderen Methoden umständlicher sind, besonders gilt dies für das Salaskinsche Verfahren, das für eine Untersuchung irgendeines Substrates acht N-Bestimmungen erfordert. Aber auch die Biuretprobe erweist sich manchmal als unanwendbar, nämlich in den Fällen, wo man Substanzen untersuchen soll, die Peptone oder andere, die Biuretprobe gebende Körper enthalten. Trotzdem beschloß ich, in der Regel die Biuretprobe anzuwenden und überall da, wo es sich um Lösungen handelte, die selbst die Biuretprobe gaben, die biuretgebenden Substanzen unter teilweiser Isolierung des Erepsins zu entfernen.

Für die Biuretprobe ist als Maß der Wirkung des Erepsins eine Peptonlösung erforderlich. Entweder stellt man sich aus dem im Handel vorkommenden Amphopepton (Kühne) eine 10%ige wässrige Lösung her, oder man bereitet sich nach Cohnheim eine Peptonlösung. Diese wird folgendermaßen hergestellt: Fein gehacktes Rindfleisch, das von Fett und Sehnen vorher möglichst befreit war, wird 2 Tage mit Wasser unter Zusatz von Toluol digeriert, das Wasser dann abgossen und nach weiterem Hinzutun von Wasser das Fleisch noch 2 Tage digeriert. Dann wird das Wasser abgepreßt und der Rückstand erst 3 Tage mit Alkohol und zwei weitere Tage mit Äther extrahiert. Nach Entfernung des Äthers wird der Rest bei Zimmertemperatur getrocknet; man erhält so ein lufttrockenes, stäubendes, gelbliches Pulver, das fast ausschließlich aus den Eiweißkörpern der Muskeln besteht. 100 g dieses Pulvers wurden mit 2 l Salzsäure von 0,4% angesetzt, 6 g Pepsin von Grubler zugefügt, kräftig geschüttelt und 8 Tage bei Brutschrank-, dann noch 14 Tage bei Zimmertemperatur der Verdauung überlassen. Wir bekamen auf diese Weise eine Lösung mit einem leichten Niederschlag. Nach der Filtrierung erhielten wir eine Flüssigkeit, die von

¹⁾ Sörensen, Enzymstudien. Diese Zeitschr. 7, 45, 1908.

dunkelbrauner Farbe war und eine sehr starke Biuretreaktion gab. Diese Flüssigkeit wurde genau gegen Lackmuspapier neutralisiert und nach Hinzufügen von Toluol im Eisschrank für die Versuche aufgehoben.

Die Untersuchung des Stickstoffs in dieser Peptonlösung ergab, daß 1 ccm der letzteren 0,0074 g N enthält. Für den Versuch verdünnten wir diese Peptonlösung um das 5 fache, so daß die Menge des Stickstoffs in derselben gleich 0,0015 g pro 1 ccm betrug.

Die Biuretprobe wurde von mir nach folgendem, von Wohlgemuth¹⁾ in seinen „Fermentmethoden“ beschriebenem Verfahren ausgeführt: Eine Reihe von Reagensgläsern wurde mit absteigenden Mengen der Fermentlösung in der Weise beschickt, daß man in das erste Gläschen 2 ccm, in das zweite 1,5 ccm, in das dritte 1 ccm, in das vierte 0,5 ccm, in das fünfte 0,25 ccm und in das sechste 0,1 ccm brachte. Dann wurde jedem Gläschen 1 ccm Peptonlösung, außerdem ca. 10 Tropfen Toluol hinzugefügt, dann jedes durch einen Stopfen fest verschlossen und auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf der Frist wurden die Gläschen herausgenommen und die Biuretprobe ausgeführt. Wenn die Fermentlösung viel Eiweißkörper enthielt, so wurden dieselben vor Anstellung der Biuretprobe mit etwas Essigsäure und einigen Krystallen Kochsalz durch Erhitzen entfernt und filtriert. Dann wurde in jedes Gläschen ein Überschuß von Lauge und 1 bis 2 Tropfen 1% ige Kupfersulfatlösung getan, wobei das Erscheinen einer rötlichen Färbung in der Flüssigkeit auf das Vorhandensein von Pepton und folglich auch auf eine negative Wirkung des Erepsins hinwies — umgekehrt sprach das Nichterscheinen dieser Färbung für eine positive Wirkung des Erepsins. Das unterste Gläschen, das eine ganz minimale Färbung noch aufzuweisen hat, gilt als unterste Grenze, und aus ihm kann man die Erepsinmenge quantitativ berechnen. Es ist klar, daß eine solche quantitative Bestimmung der Wirkung des Erepsins nur eine relative ist, d. h. man kann wohl feststellen, daß in der einen Lösung mehr Erepsin enthalten ist als in der andern, auch um wie viel mehr, doch wird

¹⁾ J. Wohlgemuth, „Grundriß der Fermentmethoden“. Verlag Julius Springer, Berlin 1913.

die absolut spaltende Kraft des Erepsins dadurch nicht näher beleuchtet. Für unsere Versuche, bei denen es in erster Reihe darauf ankam, festzustellen, ob eine Substanz die Wirkung des Erepsins hemmt oder fördert, war aber eine solche Methodik vollkommen ausreichend.

Bei der Untersuchung des Einflusses der verschiedenen Reagenzien auf die Wirkung des Erepsins tauchte natürlich zunächst die wichtige Frage auf, woher das Erepsin zu nehmen sei. Es schien, als wenn es am leichtesten und bequemsten wäre, das nach dem Verfahren von Wiechowski aus der Schleimhaut des Darms gewonnene Pulver zu verwenden, wie es auch Raubitschek tat; doch erwies es sich für uns als ganz unanwendbar für die Untersuchungen, weil es einerseits selbst viel Peptone enthält, und andererseits die aus ihm bereiteten Extrakte sehr wenig Erepsin aufweisen. Dieselben Mängel hat auch der Preßsaft der Darmschleimhaut. Er erschien mir deshalb zweckmäßiger, eine reine Erepsinlösung zu verwenden, die aus der Darmschleimhaut durch teilweise Isolierung des Fermentes gewonnen wurde, und zwar nach dem Verfahren von Jacoby¹⁾ durch Niederschlagen des Fermentes mit Hilfe einer Ammonsulfatlösung. Ich benutzte für meine Versuche ausschließlich den Hundedarm.

Zur Gewinnung des Erepsins verfuhr ich folgendermaßen: Der Darm des frisch getöteten, ausgebluteten Hundes wurde der Länge nach aufgeschnitten, mit Leitungswasser gereinigt und die Darmschleimhaut mit einem Skalpell abgeschabt. Der mit physiologischer Kochsalzlösung zerriebene Brei wurde dann mit Toluol versetzt und für 24 Stunden in den Eisschrank getan. Nach Ablauf dieser Frist soll das Extrakt nach Cohnheim filtriert und dann durch Ammonsulfat gefällt werden; es erwies sich aber, daß das Filtrieren nur außerordentlich langsam vor sich geht; denn der Extrakt enthält eine Unmenge Schleim, der die Filtration nicht nur durch Papier, sondern auch durch Leinwand sehr erschwert. Ich setzte deshalb zu dem Extrakt so viel einer verdünnten Essigsäurelösung zu, bis der Schleim sich zu lösen begann, und filtrierte ihn dann durch ein Faltenfilter. Ich erhielt auf diese Weise ein etwas trübes

¹⁾ Jacoby, Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 135, 1900; zit. Cohnheim.

Filtrat. Dieses wurde mit Sodalösung schwach alkalisch gemacht und dann mit so viel einer gesättigten Ammonsulfatlösung versetzt, daß auf zwei Teile des Filtrats drei Teile der Ammonsulfatlösung kamen. Hiernach wurde die Mischung nach Zusatz von Toluol für 24 Stunden in den Eisschrank gestellt. Nach Ablauf der Frist wurde der Niederschlag abfiltriert, in physiologischer Lösung aufgeschwemmt und im Dialysator gegen fließendes Wasser so lange dialysiert, bis kein Ammoniak mehr in der Lösung nachweisbar war. Für gewöhnlich nimmt diese Herstellung 4 bis 5 Tage in Anspruch. Auf diese Weise bekam ich eine leicht opaleszierende peptonfreie Flüssigkeit, die eine ziemlich kräftige Erepsinwirkung äußerte, indem 0,25 ccm dieser Lösung 1 ccm meiner oben beschriebenen Peptonlösung in 24 Stunden spaltete (Versuch 1, Kontrollprobe). Danach wäre 1 ccm der Fermentlösung imstande, 4 ccm Peptonlösung zu spalten. Wenn wir nun bedenken, daß es auf dem Wege der Extraktion uns sicherlich nicht gelungen war, alles in der Darmschleimhaut befindliche Erepsin in Lösung zu bringen, sondern daß der bei weitem größte Teil des Erepsins noch von den Darmzellen festgehalten wurde, so kann man aus der oben erzielten Wirkung schließen, daß die im Darm enthaltene Erepsinmenge keine unerhebliche ist und eine wesentliche Rolle in der Verdauung der Eiweißkörper spielen dürfte.

Bei der Untersuchung der verschiedenen Reagenzien, die die Wirkung des Erepsins beeinflussen, mußte man vor allem der Temperatur seine Aufmerksamkeit zuwenden.

Nach Untersuchungen von Cohnheim vernichtet schon eine Temperatur von 63° C die Wirkung des Erepsins vollständig. Und nach Raubitschek liegt das Optimum der Wirkung bei einer Temperatur von 38° C. Das ist alles, was wir vom Einfluß der Temperatur auf die Erepsinwirkung wissen.

Ich verfuhr bei der Untersuchung der Temperatur auf die Erepsinwirkung folgendermaßen: Versuch 1: Eine Reihe Reagensgläser beschickte ich mit absteigenden Mengen Fermentlösung — 1 ccm, 0,5 ccm, 0,25 ccm, 0,125 ccm —; dann wurden dieselben eine halbe Stunde lang der Einwirkung einer bestimmten Temperatur ausgesetzt. Nach Ablauf dieser Frist

wurde in jedes dieser Gläschen 1 ccm Peptonlösung und Toluol hinzugegeben. Nach 24stündiger Aufbewahrung im Brutschrank wurde dann die Biuretprobe ausgeführt.

Es erwies sich, daß die Temperatur von 58° C die Grenze für die Wirkung des Erepsins darstellt: es geht bei dieser Temperatur zugrunde. Temperaturen von 58° bis 52° hemmen die Wirkung des Erepsins, und endlich übt eine Temperatur von 50° bei einer Einwirkungsdauer von 30 Minuten keine schädliche Wirkung auf dasselbe aus, wenn auch eine dauernde Einwirkung dieser Temperatur im Laufe von 24 Stunden das Ferment doch zerstört. —

In diesem Versuche wie in allen übrigen bedeutet das + die positive Biuretprobe resp. die negative Wirkung des Ferments, das — aber weist auf das Nichtvorhandensein der Biuretprobe resp. auf die positive Wirkung des Erepsins hin.

Was den Einfluß von Alkalien und Säuren betrifft, so finden wir schon dementsprechende Hinweise bei Cohnheim¹⁾, der sagt, daß das Erepsin am besten in 0,06 % Natr. carbon. wirkt, während umgekehrt eine 0,1 %ige Salzsäurelösung das Ferment schon nach sechsstündiger Wirkung zerstört. Dasselbe fanden Raubitschek und Weinland, während Euler²⁾ bezüglich des Alkali diese Angaben nicht bestätigen konnte; denn er beobachtete daß beispielsweise KOH in einer Konzentration, die höher als 0,000 025 normal ist, stets peptolytische Fermente hemmt. — Neuerdings teilen Rona und Arnheim³⁾ in einer interessanten Studie mit, daß das Erepsin sich ähnlich wie das Trypsin in seinen Wirkungsbedingungen verhält, indem beim Erepsin ebenso wie beim Trypsin die Anionen die proteolytisch wirksamen Teile sind. Doch besteht bezüglich der Säuredissoziationskonstante ein geringer, aber deutlich nachweisbarer Unterschied. Das Wirkungsoptimum des Erepsins stimmt mit der H'-Ionenkonzentration des Darmsaftes von Hunden gut überein.

¹⁾ Cohnheim, „Weitere Mitteilungen über Erepsin“. Zeitschr. f. phys. Chem. **35**, 134, 1902.

²⁾ Fuler, „Zur Kenntnis der alkalischen Verdauung“. Svrenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **6**, 39, 1907.

³⁾ P. Rona und F. Arnheim, Beitrag zur Kenntnis des Erepsins. Diese Zeitschr. **57**, 84, 1913.

Was die Wirkung der Salze auf das Erepsin betrifft, so konnten wir in der Literatur keine besonderen Hinweise bezüglich dieser Frage finden, außer in der Arbeit von Raubitschek, in der sie davon spricht, daß weder Calciumchlorid noch Natriumsulfat in Dosen, wie sie die Darmwand in vivo passieren, irgendeine Wirkung auf das Erepsin ausüben, nähere Angaben über die angewandte Konzentration werden aber nicht gemacht.

Um den Einfluß der verschiedenen Alkalien, Säuren und neutralen Salze auf die Erepsinwirkung zu ermitteln, stellte ich eine Reihe von Versuchen in folgender Weise an: Wieder wurde einer Reihe von Reagensgläsern mit absteigenden Mengen dieser Erepsinlösung 1 ccm, 0,5 ccm; 0,25 ccm, 0,125 ccm versetzt, 1 ccm einer bestimmten Lösung der betreffenden Substanz jeder Fermentportion hinzugefügt, und dann je 1 ccm Peptonlösung zugegeben. Auf diese Weise wurden mehrere Reihen angesetzt und die zu untersuchenden Substanzen in verschiedener Konzentration unter steter Innehaltung der gleichen Flüssigkeitsmenge den einzelnen Gläsern zugefügt. Nach Zusatz von Toluol wurden die Gläser verschlossen und in den Brutschrank gestellt. Natürlich wurde niemals versäumt, eine Kontrollreihe in der entsprechenden Weise anzusetzen. Diese Kontrollreihe der Reagensgläser stellte die normale Wirkung des Erepsins dar und mit ihr wurden die andern Reihen verglichen, in denen die einen oder anderen Reagenzien wirkten.

Aus Versuch 2 ersehen wir, daß alle Säuren, organische wie anorganische, die Erepsinwirkung hemmen, wobei Salzsäure, Essigsäure und Salpetersäure energischer als die übrigen Säuren wirken. Für alle Säuren liegt die untere Grenze ihrer hemmenden Wirkung bei einer Konzentration von 0,005 bis 0,002 %.

Dasselbe beobachteten wir auch bezüglich der Alkalien. Alle Alkalien hemmen die Erepsinwirkung, wenn auch in geringerem Grade als die Säuren. Lösungen von 0,006 % der Natronlauge und des Ammoniaks und von 0,04 % des Natriumcarbonats sind für das Erepsin unschädlich, hemmen aber schon bei etwas stärkerer Konzentration. Außerdem mußte noch die Frage geklärt werden, wie im gegebenen Falle die Säuren

wirken: ob die Wirkung des Erepsins durch die Säure nur eine Herabsetzung wegen der Verschlechterung des Milieus erfährt, oder ob das Erepsin durch die Säure teilweise gänzlich vernichtet wird.

Zu diesem Zwecke wurde (Versuch 4) in eine Reihe Reagensgläser mit absteigender Menge Fermentlösung eine bestimmte Lösung von Säuren (Schwefelsäure, Essigsäure) und Alkalien hinzugegeben. Nach Verlauf einer Stunde wurde der Inhalt der Reagensgläser gegen empfindliches Lackmuspapier sorgsamst neutralisiert, dann wurden nach Hinzufügen von 1 ccm Peptonlösung und Toluol in jedes Gläschen diese für 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf der Frist wurde die Biuretprobe vorgenommen. Diese Versuche zeigten, daß 0,04 % Schwefelsäure das Erepsin im Laufe einer Stunde vernichtet, während schwächere Lösungen es nur hemmen. Auch die Alkalien erweisen sich als solche Gifte für das Erepsin wie die Säuren, doch muß in diesem Falle die Konzentration der Lösungen eine bedeutend größere sein: Lösungen von 0,13 % Natronlauge und solche von 0,06 % Ammoniak zerstören das Erepsin, schwächere Lösungen hemmen jedoch nur die Wirkung desselben.

Bei der Untersuchung des Einflusses von neutralen Salzen auf die Erepsinwirkung fanden wir, daß nicht alle in gleicher Weise wirken: die einen hemmen, die anderen bleiben indifferent. Es war vor allem interessant, die Wirkung des Kochsalzes zu untersuchen. Es erwies sich, daß dieses Salz nicht indifferent für das Erepsin ist und dessen Wirkung sogar schon bei einer Konzentration von 1,9 % herabsetzt, bei weiterer Verdünnung jedoch seinen schädlichen Einfluß verliert (Versuch 5). Umgekehrt übt das Kaliumchlorid sogar in starken Lösungen (4,5 %) gar keinen schädlichen Einfluß auf das Erepsin aus. Offenbar beruht die hemmende Wirkung des Kochsalzes auf dem Na-Ion. Dieses findet auch noch dadurch seine Bestätigung, daß Natriumnitrat die Erepsinwirkung hemmt, während Kaliumnitrat gar keine Wirkung ausübt.

Andererseits spielt auch das Säuremolekül der Salze eine wichtige Rolle; denn die Salze der Schwefel- und Phosphorsäure bleiben ohne Wirkung (Versuch 5 und 6) auf das Erepsin, während die Salze der anderen Säuren die Wirkung des Erepsins

hemmen. So sind z. B. Natriumsulfat, Kaliumsulfat, Natriumphosphat, Ammoniumsulfat indifferent gegenüber dem Erepsin, Natriumacetat und Ammoniumchlorid hemmen jedoch die Wirkung desselben (Versuch 6 und 7). Genau dieselbe Erscheinung sehen wir auch an den Salzen der schweren Metalle, so wirkt Magnesiumsulfat auf das Erepsin nicht, während Calciumchlorid, Magnesiumchlorid und Bariumchlorid die Wirkung desselben hemmen.

Vergleichen wir andererseits das Chlorion mit den anderen Halogenen Br und Jod, so sehen wir, daß die letzteren selbst in starken Lösungen gar keinen Einfluß ausüben (Versuch 9).

Was die Konzentration der Salzlösungen betrifft, die eine Schwächung der Erepsinwirkung herbeiführen, so übersteigt sie bedeutend die der Laugenlösungen, so daß selbst die in dieser Beziehung kräftigsten Salze Natriumacetat und Ammoniumchlorid schon in 0,18 bis 0,22%igen Lösungen eine hemmende Wirkung auf das Erepsin ausüben. Umgekehrt können Salze, die die Erepsinwirkung nicht beeinflussen, in ihrer Konzentration bedeutende Grade erreichen, ohne dem Erepsin irgendwie zu schaden. So erwies sich Natriumphosphat in einer Konzentration von ca. 6,6%, Ammoniumsulfat in einer Konzentration von ca. 8,8%, Kaliumsulfat in einer Konzentration von ca. 5,7% und Natriumsulfat bei ca. 10,7% dem Erepsin gegenüber wirkungslos.

Im Anschluß an die Wirkung neutraler Salze auf das Erepsin sei in aller Kürze einiges über das Verhalten einzelner Eiweißspaltprodukte dem Ferment gegenüber mitgeteilt.

Ich untersuchte nur den Einfluß von Glykokoll und Alanin. Es erwies sich, daß das eine wie das andere in mäßiger Konzentration (3% resp. 4%) weder Förderung noch Hemmung zeigten (Versuch 10). Hieraus kann man schließen, daß das Erepsin durch die bei der Verdauung gebildeten Eiweißspaltprodukte nicht sonderlich gehemmt wird.

Außerdem erschien auch die Frage interessant, wie wohl der Einfluß des Alkohols auf das Erepsin sein würde. Wie aus Versuch 10 ersichtlich, hemmt der Alkohol die Erepsinwirkung beträchtlich, und erst 2%ige Lösungen desselben erweisen sich als indifferent.

Bezüglich des Einflusses des Blutserums auf die Erepsin-

wirkung finden wir Hinweise nur in der Arbeit von Cohnheim und Pletnew¹⁾ und von Wohlgemuth²⁾, doch widersprechen diese Arbeiten einander. Letzterer findet, daß das Blutserum die Erepsinwirkung fördere, die beiden anderen finden umgekehrt, daß es sie verlangsamt. Was den Einfluß des Pankreas- und Magensaftes betrifft, so ist darüber nichts bekannt.

Unsere Versuche wurden mit normal-saurem Magensaft, neutralisiertem und neutralisiert-gekochtem und ebenso mit Pankreassaft und Blutserum mit und ohne vorheriges Aufkochen ausgeführt. Für die Versuche nahm ich diese Säfte aus Fisteln von Hunden, außerdem benutzte ich Pankreassaft des Menschen, der mir von Prof. Wohlgemuth freundlichst zur Verfügung gestellt wurde. Die Anordnung der Versuche war dieselbe wie bei der Untersuchung der Säuren und Alkalien.

Es zeigte sich (Versuch 11), daß der saure Magensaft die Wirkung des Erepsins aufhebt, während umgekehrt der neutralisierte Saft mit und ohne Kochen keinen Einfluß zeigt. Offenbar wirkt hier der Magensaft nur durch seine Säure. Umgekehrt sind Pankreassaft und Blutserum (Versuch 12) nicht so indifferent — ihr Einfluß auf das Erepsin besteht in einer Förderung —; dies dürfte zum Teil damit zusammenhängen, daß, wie wir später sehen werden, der Pankreassaft und das Blutserum selber eine geringe Menge Erepsin enthalten. Durch das Kochen geht das Erepsin des Pankreassaftes und des Blutserums zugrunde, und deshalb verschwindet die Wirkung des letzteren.

Jedenfalls ist die Förderung der Erepsinwirkung durch den Pankreassaft des Menschen deutlich sichtbar, sie ist stärker als die fördernde Wirkung des Pankreassaftes vom Hunde und des Blutserums.

Vom Vorhandensein des Erepsins im Pankreassaft wissen wir schon aus alten Arbeiten von Vernon³⁾, Bayliss und Starling, wie auch aus neuen von Glaeßner und Staubner⁴⁾

¹⁾ Cohnheim und Pletnew, *Zeitschr. f. phys. Chem.* **69**, 108, 1908.

²⁾ J. Wohlgemuth, *Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen.* Diese *Zeitschr.* **39**, 303, 1912.

³⁾ Vernon, *Universal présence of erepsin in animal tissues.* *Journ. of Physiol.* **32**, 33; **33**, 81, 1905.

⁴⁾ Glaeßner und Staubner, diese *Zeitschr.* **25**, 204, 1910.

und Wohlgemuth, wenn auch andererseits May dieses für zweifelhaft hält. In dem Bestreben, die Ergebnisse dieser Forschung zu prüfen, stellte ich Versuche sowohl mit dem Pankreassaft von Hunden wie mit dem des Menschen an. Um gleichzeitig über den Einfluß des Blutserums auf die ereptischen Eigenschaften des Pankreassaftes urteilen zu können, bediente ich mich des Reihenversuches, den ich in folgender Weise anstellte: Je eine Reihe von Reagensgläsern wurde mit absteigenden Mengen des Saftes beschickt und demselben 1 ccm Kochsalzlösung + 1 ccm Peptonlösung hinzugefügt, eine andere Reihe Reagensgläser enthielt eine ebensolche Menge des Saftes und der Peptonlösung, nur wurde statt der Kochsalzlösung 1 ccm Blutserum des Hundes hinzugefügt. Aus diesen Versuchen (Versuch 13) geht hervor, daß der Pankreassaft des Hundes eine sehr geringe Menge Erepsin enthält, da erst 4 ccm imstande sind, 1 ccm Peptonlösung zu verdauen; beim Menschen findet man bedeutend mehr Erepsin.

Was den Einfluß des Blutserums betrifft, so kennzeichnet er sich auch hier, wie in dem Versuch mit reiner Erepsinlösung, durch Förderung der Erepsinwirkung. Dasselbe fand auch Wohlgemuth.

Es sei noch hervorgehoben, daß wir von demselben Hunde eine sehr kräftige Erepsinlösung durch Isolierung des Erepsins aus der Darmschleimhaut erhielten, trotzdem dieses Tier den größten Teil seines Pankreassekretes durch eine Fistel nach außen entleerte. Wenn also Pankreassaft in den Darm durch einen anderen Zugang gelangte, dann nur in sehr geringer Menge und mit ganz schwachen ereptischen Eigenschaften. Dies spricht sehr beredt gegen die Meinung jener Autoren, die das Vorkommen des Erepsins im Darmlumen auf die Gegenwart des Pankreassaftes zurückführen wollen.

Man muß also zugeben, daß im Pankreassaft des Hundes eine sehr geringe Menge Erepsin enthalten ist; beim Menschen ist diese Menge bedeutend größer, obgleich sie auch hier im Vergleich mit Darm, Leber und Nieren des Hundes nur unbedeutend ist.

Das Vorkommen des Erepsins in anderen Organen ist zuerst von Vernon festgestellt und später von Cohnheim und Pletnew bestätigt worden. Sie fanden am meisten Erepsin

in den Nieren, dann in der Leber, am wenigsten in den Muskeln. Giuseppe Amanto¹⁾ fand es in allen Organen, sogar im Magen und in der Speiseröhre. Raubitschek dagegen konnte nur sein Vorhandensein in der Darmschleimhaut konstatieren, in keinem anderen Organe sonst.

In meinen Untersuchungen verwandte ich nicht nur den Preßsaft der Organe, sondern gewann auch das Erepsin aus denselben nach dem Verfahren der Isolierung der Fermente, genau so, wie ich es mit der Darmschleimhaut gemacht hatte. Ich benutzte für meine Versuche Kaninchen, die man vorher sorgsamst hatte ausbluten lassen, da das Vorhandensein von Blut in den Organen die Biuretprobe hätte stören können. Das erreicht man bekanntlich am zweckmäßigsten in der Weise, daß man das betreffende Kaninchen, dem man die Organe nehmen will, aus der Arteria carotis teilweise entblutet und den Blutverlust gleichzeitig durch Infusion eines entsprechend großen Quantum an warmer physiologischer Kochsalzlösung ersetzt. Das wurde so lange fortgesetzt, wie das Kaninchen noch Leben zeigte. Die letzten Reste von Blut entfernt man am ausgiebigsten, wenn man die Organe in situ von der zugehörigen Arterie aus durchspült. Die gewonnenen Organe wurden in ganz kleine Stückchen geschnitten und in der Reibschale unter Zuhilfenahme von Quarzsand zerquetscht, um die Zellen möglichst ganz zu zerstören. Der so erhaltene Brei wurde in ein Buchnersches Preßtuch gelegt und mittels einer Handpresse ausgepreßt. Sollten die Untersuchungen aber nicht an Preßsaft, sondern an isoliertem Erepsin ausgeführt werden, so wurde diese Masse ganz so behandelt wie vorher bei der Darmschleimhaut; hierbei mußte Sorge getragen werden, daß die aus jedem Organ gewonnene Fermentlösung von gleicher Konzentration sei. Hierauf wurde deshalb Gewicht gelegt, weil man so die Möglichkeit hatte, die Menge des Erepsins verschiedener Organe untereinander zu vergleichen.

Bei der Untersuchung des Preßsaftes verfahren wir wie in den früheren Versuchen, nur mit dem Unterschiede, daß eine von den beiden Versuchsreihen als Kontrolle diene und vor der Unterbringung im Brutschrank gekocht wurde. Durch

¹⁾ Giuseppe Amanto, Arch. di Farmacol. 12, 502, 1911.

das Kochen geht das Erepsin zugrunde, und man kann nun diese Reihe Reagensgläschen mit jener vergleichen, in der das Erepsin noch wirkt. Außerdem wurden vor Ausführung der Biuretprobe einem jeden Reagensgläschen 5 bis 9 Tropfen Essigsäure und 2 bis 3 Krystalle Kochsalz zugefügt, dann wurden sie nach dem Kochen filtriert, damit die die Reaktion störenden Eiweißkörper entfernt würden.

Aus diesen Versuchen ersehen wir, daß am meisten Erepsin sich im Preßsaft der Leber und der Nieren befindet; in den Muskeln, der Milz und dem Blutserum befinden sich nur Spuren desselben, denn 3 ccm Preßsaft von Muskeln, Milz resp. Blutserum sind nicht imstande, 1 ccm Peptonlösung ganz zu verdauen (Versuch 14).

Wenden wir uns nun der isolierten Erepsinlösung zu (Versuch 15), so sehen wir, daß die Menge des Erepsins in der Leber größer als die in der Schleimhaut ist, in der sie aber dennoch größer als in den Nieren ist. Wir finden nämlich, daß 1,0 ccm Peptonlösung von 0,25 ccm Erepsinlösung der Leber, 0,5 ccm der Darmschleimhaut und von 1,0 ccm Erepsinlösung der Niere verdaut wird.

Von der Steigerung der Autolyse bei Phosphorvergiftung wissen wir schon aus den Arbeiten von Jacoby¹⁾, Porges und Pfibram²⁾, Waldvogel³⁾, Abderhalden⁴⁾ und Wohlgemuth⁵⁾, und eine starke Steigerung der Autolyse aller Organe fanden Neuberg und Richter⁶⁾. Es war deshalb höchst interessant zu wissen, wie wohl im gegebenen Falle das Erepsin sich verhalten würde, um so mehr, als wir in dieser

¹⁾ Jacoby, Über die Beziehung der Leber und Blutveränderung bei Phosphorvergiftung zur Autolyse. Zeitschr. f. physikal. Chem. 30, 174, 1900.

²⁾ Porges und Pfibram, Zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Phosphorvergiftung. Arch. f. experim. Pathol. 59, 20, 1900.

³⁾ Waldvogel, Phosphorvergiftung und Autolyse. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 82, 473, 1905.

⁴⁾ Abderhalden und Schittenhelm, Studien über Phosphorvergiftung. Zeitschr. f. physikal. Chem. 49, 40, 1906.

⁵⁾ Wohlgemuth, Chemie der Phosphorleber. Diese Zeitschr. 1, 161, 1906.

⁶⁾ Neuberg und Richter, Über das Vorkommen von freien Aminosäuren im Blute bei akuter Leberatrophie. Deutsche med. Wochenschr. 1904, 499.

Frage nur einen Hinweis in einer Arbeit haben, nämlich in der Arbeit Bergell und Lewin¹⁾, die in dem Leberpreßsaft des normalen Hundes peptonspaltendes Ferment fanden, während sie bei P-Vergiftung dieses Enzym vermißten.

Um diese Frage zu klären, stellte ich Versuche mit Kaninchen wie mit Hunden an. Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: Es wurde ein Tag über den andern den Tieren Phosphoröl unter die Haut gespritzt, den Kaninchen 0,001 g Phosphor, den Hunden 0,005 g Phosphor so lange, bis ein schwerer Ikterus auftrat. Dann wurde das Tier auf die übliche Weise entblutet und der Preßsaft in der oben beschriebenen Weise gewonnen und auf seinen Ereptionsgehalt geprüft.

Diese Versuche zeigen (Versuch 17), daß sich bei der Phosphorvergiftung eine intensive Steigerung der ereptischen Eigenschaften aller Organe einstellt. Während im normalen Zustand 1,0 ccm einer Peptonlösung von 2,0 ccm Preßsaft der Leber und von 2,5 ccm Preßsaft der Nieren verdaut werden, sehen wir bei der Phosphorvergiftung, daß 1,0 ccm Peptonlösung schon von 1,0 ccm Leberpreßsaft und Nierenpreßsaft verdaut wird. — Sogar die Muskeln, die Milz und das Blutserum weisen deutlich ereptische Eigenschaften auf.

Ebenso ist die fördernde Eigenschaft des Blutserums bei Phosphorvergiftung gesteigert, allerdings nur unerheblich, vielleicht beruht diese Steigerung auf dem größeren Eigengehalt des Blutserums an Erepsin (Versuch 18).

Zusammenfassung der Resultate.

1. Die Menge des Erepsins in der Darmschleimhaut ist sehr bedeutend; es dürfte ihm deshalb auch eine große Bedeutung im Verdauungsprozeß zukommen.

2. Bei einer Temperatur von 58° wird Erepsin zerstört, gleichfalls zerstörend wirkt der dauernde Aufenthalt in einer Temperatur bei 50°.

3. Säuren, organische wie anorganische, stellen Gifte für das Erepsin dar, wobei einige von ihnen in einer Konzentration von 0,02% bis 0,04% das Ferment in 1 Stunde vernichten. In schwächeren Konzentrationen hemmen die Säuren

¹⁾ Bergell und Lewin, Über den Abbau der Eiweißkörper im Organismus. Zeitschr. f. experim. Pathol. 3, 1906.

Ferment- menge	65° $\frac{1}{8}$ Std.	62° $\frac{1}{8}$ Std.	60° $\frac{1}{8}$ Std.	58° $\frac{1}{8}$ Std.	55° $\frac{1}{8}$ Std.	52° $\frac{1}{8}$ Std.	50° $\frac{1}{8}$ Std.	50° $\frac{1}{8}$ Std.	Kontroll 37° 24 Std.
1,0	+	+	+	+		-		+	-
0,5	++	++	++	++	--	-	-	++	-
0,25	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	-
0,125	++++	++++	++++	++++	++	+	+	++++	+

Ferment- menge	3 Std. im Brutschr.	4 Std. im Brutschr.	6 Std. im Brutschr.	8 Std. im Brutschr.	10 Std. im Brutschr.	12 Std. im Brutschr.	24 Std. im Brutschr.	48 Std. im Brutschr.	Kon- trolle 37° 24 Std.
1,0	+	+	—	—	—	—	—	—	—
0,5	+	+	+	—	—	—	—	—	—
0,25	+	+	+	+	+	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 2.

Ferment- menge	Schwefelsäure					
	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$	+ 1 ccm $\frac{n}{600}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1000}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2000}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 0,033%	ca. 0,011%	ca. 0,005%	ca. 0,003%	ca. 0,001%	Kontrolle
1,0	+	—	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—
0,25	+	+	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Salpetersäure					
	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$	+ 1 ccm $\frac{n}{600}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1000}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2000}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 0,021%	ca. 0,007%	ca. 0,003%	ca. 0,002%	ca. 0,001%	Kontrolle
1,0	+	—	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—
0,25	+	+	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Salzsäure					
	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$	+ 1 ccm $\frac{n}{600}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1000}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2000}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 0,012%	ca. 0,004%	ca. 0,002%	ca. 0,002%	ca. 0,0008%	Kontrolle
1,0	+	—	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—
0,25	+	+	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Essigsäure					
	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$	+ 1 ccm $\frac{n}{600}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1000}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2000}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 0,02%	ca. 0,007%	ca. 0,003%	ca. 0,002%	ca. 0,001%	Kontrolle
1,0	+	+	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—
0,25	+	+	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Buttersäure					
	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$ ca. 0,027%	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$ ca. 0,009%	+ 1 ccm $\frac{n}{600}$ ca. 0,004%	+ 1 ccm $\frac{n}{1000}$ ca. 0,027%	+ 1 ccm $\frac{n}{2000}$ ca. 0,001%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	—	—	—	—	—
0,5	+	—	—	—	—	—
0,25	+	+	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Oxalsäure					
	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$ ca. 0,04%	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$ ca. 0,013%	+ 1 ccm $\frac{n}{600}$ ca. 0,006%	+ 1 ccm $\frac{n}{1000}$ ca. 0,004%	+ 1 ccm $\frac{n}{2000}$ ca. 0,002%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	+	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—
0,25	+	+	+	+	—	—
0,135	+	+	+	+	+	+

Versuch 3.

Ferment- menge	Natronlauge					
	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$ ca. 0,13%	+ 1 ccm $\frac{n}{50}$ ca. 0,027%	+ 1 ccm $\frac{n}{80}$ ca. 0,015%	+ 1 ccm $\frac{n}{160}$ ca. 0,013%	+ 1 ccm $\frac{n}{200}$ ca. 0,006%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	+	—	—	—	—
0,5	+	+	+	—	—	—
0,25	+	+	+	+	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Ammoniak					
	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$ ca. 0,06%	+ 1 ccm $\frac{n}{20}$ ca. 0,03%	+ 1 ccm $\frac{n}{40}$ ca. 0,015%	+ 1 ccm $\frac{n}{80}$ ca. 0,007%	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$ ca. 0,006%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	+	—	—	—	—
0,5	+	+	+	—	—	—
0,25	+	+	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Natriumkarbonat					
	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$ ca. 0,95%	+ 1 ccm $\frac{n}{50}$ ca. 0,19%	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$ ca. 0,095%	+ 1 ccm $\frac{n}{200}$ ca. 0,047%	+ 1 ccm $\frac{n}{400}$ ca. 0,023%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	+	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—
0,25	+	+	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Versuch 4.

Ferment- menge	Schwefelsäure $\frac{1}{2}$ Std.			Essigsäure $\frac{1}{2}$ Std.		
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 2,8%	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$ ca. 0,028%	+ 1 ccm $\frac{n}{400}$ ca. 0,007%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 2%	+ 1 ccm $\frac{n}{100}$ ca. 0,02%	+ 1 ccm $\frac{n}{300}$ ca. 0,007%
1,0	+	+	—	+	+	—
0,5	+	+	—	+	+	—
0,25	+	+	+	+	+	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Natronlauge $\frac{1}{2}$ Std.			Ammoniak $\frac{1}{2}$ Std.		
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 1,8%	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$ ca. 0,18%	+ 1 ccm $\frac{n}{20}$ ca. 0,06%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 0,6%	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$ ca. 0,06%	+ 1 ccm $\frac{n}{20}$ ca. 0,03%
1,0	+	—	—	+	—	—
0,5	+	+	—	+	—	—
0,25	+	+	—	+	+	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Versuch 5.

Ferment- menge	NaCl			KCl			
	+ 1 ccm $\frac{2n}{1}$ ca. 3,8%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 1,9%	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 0,85%	+ 1 ccm $\frac{2n}{1}$ ca. 5,0%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 2,5%	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 1,25%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	—	—	—	—	—	—
0,5	+	+	—	—	—	—	—
0,25	+	+	—	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	NaNO ₃			KNO ₃			
	+ 1 ccm $\frac{2n}{1}$ ca. 5,6%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 2,8%	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 1,6%	+ 1 ccm $\frac{2n}{1}$ ca. 6,0%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 3,0%	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 1,5%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	—	—	—	—	—	—	—
0,5	+	—	—	—	—	—	—
0,25	+	+	—	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Na ₂ SO ₄		K ₂ SO ₄		
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 10,7%	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 5,3%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 5,7%	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 2,7%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	—	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+

Versuch 6.

Ferment- menge	Natriumphosphat		Ammoniumsulfat			
	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$	+ 1 ccm $\frac{2n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 6,6%	ca. 1,8%	ca. 8,8%	ca. 4,4%	ca. 4,4%	Kontrolle
1,0	—	—	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+

Versuch 7.

Ferment- menge	Natriumnitrat			Natriumacetat			
	+ 1 ccm $\frac{2n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$	+ 1 ccm $\frac{n}{4}$	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 5,4%	ca. 2,7%	ca. 1,8%	ca. 2,2%	ca. 1,1%	ca. 0,45%	Kontrolle
1,0	+	—	—	+	—	—	—
0,5	+	—	—	+	—	—	—
0,25	+	+	—	+	+	+	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 8.

Ferment- menge	Calciumchlorid			Magnesiumchlorid			
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$	+ 1 ccm $\frac{n}{4}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$	+ 1 ccm $\frac{n}{4}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 2,5%	ca. 1,2%	ca. 0,6%	ca. 6,8%	ca. 3,4%	ca. 1,7%	Kontrolle
1,0	+	—	—	+	+	—	—
0,5	+	+	—	+	+	—	—
0,25	+	+	—	+	+	+	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Bariumchlorid			Ammoniumchlorid			
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$	+ 1 ccm $\frac{n}{20}$	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$	+ 1 ccm $\frac{n}{4}$	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$	+ 1 ccm H ₂ O
	ca. 8,0%	ca. 0,8%	ca. 0,4%	ca. 1,8%	ca. 0,45%	ca. 0,18%	Kontrolle
1,0	+	—	—	+	—	—	—
0,5	+	—	—	+	+	—	—
0,25	+	+	+	+	+	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Ferment- menge	Magnesiumsulfat			
	+ 1 ccm $\frac{n}{2}$ ca. 4,1%	+ 1 ccm $\frac{n}{4}$ ca. 2,0%	+ 1 ccm $\frac{n}{10}$ ca. 0,4%	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+

Versuch 9.

Ferment- menge	Natr.-Jod	Natr.-Br.	Kal.-Jod	Kal.-Br.	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 6,2%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 3,0%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 5,5%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 3,3%	
1,0	—	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—	—
0,125	+	+	+	+	+

Versuch 10.

Ferment- menge	Alanin	Glykokoll	Alkohol				+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 3,0%	+ 1 ccm $\frac{n}{1}$ ca. 2,5%	ca. 10,0%	ca. 3,0%	ca. 1,5%	ca. 0,6%	
1,0	—	—	+	+	—	—	—
0,5	—	—	+	+	—	—	—
0,25	—	—	+	+	+	—	—
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 11.

Wirkung des sauren, neutralisierten und gekochten Magensaftes
auf Erepsinlösung

Ferment- menge	+ 1 ccm Magensaft	+ 1 ccm neutralisierter Magensaft	+ 1 ccm neutralisierter Magensaft, gekocht	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
1,0	+	—	—	—
0,5	+	—	—	—
0,25	+	—	—	—
0,125	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+

Versuch 12.

Wirkung des Pankreassaftes und Blutserums auf Erepsinlösung

Ferment- menge	+ 1 ccm Pankreassaft des Hundes	+ 1 ccm Pankreassaft des Hundes, gekocht	+ 1 ccm Pankreassaft des Menschen	+ 1 ccm Pankreassaft des Menschen, gekocht	+ 1 ccm Blutserum des Hundes	+ 1 ccm Blutserum des Hundes, gekocht	+ 1 ccm H ₂ O Kontrolle
2,0	—	—	—	—	—	—	—
1,5	—	—	—	—	—	—	—
1,0	+	+	—	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 13.

Untersuchungen über das Vorkommen von Erepsin
im reinen Pankreassaft.

Saftmenge	Menschlicher Pankreassaft		Hundepankreassaft	
	+ 1 ccm 0,8% NCl	+ 1 ccm Hundeserum	+ 1 ccm 0,8% NCl	+ 1 ccm Hundeserum
4,0	—	—	— +	—
3,0	—	—	+	+
2,0	+	—	+	+
1,0	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+

Versuch 14.

Untersuchungen über das Vorkommen von Erepsin im Preßsaft
der Leber, Nieren, Milz, Muskel und Serum.

Preßsaft- menge	Leber	Leber, gekocht	Nieren	Nieren, gekocht	Blut- serum	Blutserum, gekocht
3,0	—	+	—	+	+ —	+
2,5	—	+	—	+	+	+
2,0	—	+	+	+	+	+
1,5	+	+	+	+	+	+
1,0	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+

Preßsaft- menge	Milz	Milz, gekocht	Muskel	Muskel, gekocht
3,0	+ —	+	+ —	+
2,5	+	+	+	+
2,0	+	+	+	+
1,5	+	+	+	+

Versuch 15.

Untersuchungen über den Einfluß des Blutserums auf das Erepsin
in den Nieren und in der Leber.

Preßsaft- menge	Leber, gekocht	Leber, nicht gekocht	Leber mit 1 ccm Blutserum	Nieren, gekocht	Nieren, nicht gekocht	Nieren mit 1 ccm Serum
3,0	+	—	—	+	—	—
2,5	+	—	—	+	—	—
2,0	+	—	—	+	+	+—
1,5	+	+	+—	+	+	+
1,0	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+

Versuch 16.

Erepsingehalt der Leber, Nieren, Darmschleimhaut.

Ferment- lösung	Leber	Nieren	Darm- schleimhaut	Leber, gekocht	Nieren, gekocht	Darm- schleimhaut
2,0	—	—	—	+	+	+
1,5	—	—	—	+	+	+
1,0	—	—	—	+	+	+
0,5	—	+	—	+	+	+
0,25	—	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+

Versuch 17,

Die Erepsinmenge in den Organen nach Phosphorvergiftung.

Preßsaft- menge	Leber	Nieren	Milz	Muskel	Blut- serum	Kontrolle durch Kochen
3,0	—	—	—	—	—	+
2,5	—	—	+	+	+	+
2,0	—	—	+	+	+	+
1,0	—	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+

Versuch 18.

Einfluß des Blutserums auf Erepsinwirkung bei Phosphorvergiftung.

Preßsaft- menge	Leber, gekocht	Leber, nicht gekocht	Leber mit 1 ccm Serum	Nieren, gekocht	Nieren, nicht gekocht	Nieren mit 1 ccm Serum
2,0	+	—	—	+	—	—
1,5	+	—	—	+	—	—
1,0	+	—	—	+	—	—
0,5	+	+	—	+	+	—
0,25	+	+	+—	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	+

Über das Vorkommen von gerinnungshemmenden Substanzen in den weiblichen Geschlechtsorganen und in der Placenta.

Von

Torahiko Fujii (Keijo, Japan).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 25. Juni 1914.)

Die Kenntnis, daß die wässerigen Auszüge von tierischen Organen wie Leber, Milz, Lymphdrüsen, Pankreas, Muskel, Magen usw. im Reagensglas eine gerinnungsbeschleunigende Wirkung auf verschiedene Plasmaarten ausüben, verdanken wir den Arbeiten von Buchanan¹⁾, Wooldridge²⁾, Foà und Pellacani³⁾ sowie insbesondere von Alexander Schmidt⁴⁾ und seinen Schülern F. Rauschenbach⁵⁾, E. Grubert⁶⁾, W. Grohmann⁷⁾ u. a.

Wenn man solche wässerigen Extrakt bei Zimmertemperatur stehen läßt oder der Autolyse im Brutschrank aussetzt, so verlieren sie allmählich ihre gerinnungsfördernde Wirkung und zeigen gerinnungshemmende Eigenschaften.

Diese Beobachtung hat Conradi⁸⁾ gemacht, und er hat

¹⁾ Buchanan, The London Medical Gazette 1, 617, 1845; Proceedings of Glasgow phil. soc. 19. Febr. 1845.

²⁾ Wooldridge, Boia Archiv 1881, 387; Festschrift für C. Ludwig 1887, S. 221; Die Gerinnung des Blutes von L. C. Wooldridge, Leipzig 1891.

³⁾ Foà und Pellacani, Ref. Malys Jahresber. 13, 129, 1884.

⁴⁾ Alexander Schmidt, Zur Blutlehre von Alexander Schmidt. Leipzig 1892; weitere Beiträge desselben Wiesbaden 1895.

⁵⁾ F. Rauschenbach, Inaug.-Dissert. Dorpat 1883.

⁶⁾ E. Grubert, Inaug.-Dissert. Dorpat 1883.

⁷⁾ W. Grohmann, Inaug.-Dissert. Dorpat 1884.

⁸⁾ Conradi, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 137, 1902.

ferner gezeigt, daß die hemmenden Substanzen bezüglich ihres Verhaltens gegen Hitze und gegenüber dialysierenden Membranen wesentlich verschieden von der gerinnungsfördernden Substanz ist.

Es lag nun nahe, in den Organen, die mit der menstruierenden Blutung in Zusammenhang stehen, nach gerinnungshemmenden Substanzen zu suchen. Denn man konnte daran denken, daß sich während der Menstruationsblutung besonders große Mengen derartiger Substanzen in ihnen ansammeln würden, und daß man ihnen ganz besonders in myomatösen Organen, die stark bluten, begegnen würde.

Es existieren darüber bereits eine Reihe von Untersuchungen, die teilweise recht widersprechend sind. Sie stimmen zwar alle darin überein, daß das Menstrualblut besonders schwer gerinnbar ist, aber die Erklärungen, die für diese Störung gegeben werden, divergieren ganz beträchtlich.

So nimmt Belle¹⁾ an, daß der Kalkgehalt des Blutes während der Menstruation erhöht und infolgedessen die Gerinnungsfähigkeit des Blutes vermindert ist.

Christea und Denké²⁾ dagegen fanden den Kalkgehalt des Blutes während der Menstruation normal und sind der Ansicht, daß in dem Verhalten der Uterusschleimhaut während der Menstruation die Ursache für die schlechte Gerinnbarkeit des Menstrualblutes liegt. Damit würde auch der in älteren Lehr- und Handbüchern der Gynäkologie noch anzutreffende Passus übereinstimmen, daß der Cervixschleim die Gerinnung des Blutes verhindert.

Neuere Untersuchungen aber von Birnbaum und Osten³⁾ haben gezeigt, daß im Gegenteil der alkalische Schleim die Blutgerinnung fördert.

Nun haben Halban und Frankl⁴⁾ in der Uterusmucosa ein proteolytisches Ferment nachweisen können, das ausschließlich im Intervallstadium und während des prämenstrualen Zeitraumes daselbst anzutreffen war. Sie halten die Menstrualblutung für die Folge einer Andauung der Capillaren durch dieses Ferment und das Ferment als die Ursache der Ungerinnbarkeit des Menstrualblutes.

Ähnlich deuten Frankl und Aschner⁵⁾ das Auffinden von Trypsin in der Uterusschleimhaut, besonders im prämenstrualen Stadium.

Nun hat Conradi zeigen können, daß frische Rinderovarien nach der Autolyse ein Extrakt liefern, das besonders gerinnungshemmende

¹⁾ Belle, Brit. med. Journ. 1907/1909.

²⁾ Christea und Denké, Wiener klin. Wochenschr. 7, 1910.

³⁾ Birnbaum, Arch. f. Gynäk. 80, 373, 1906.

⁴⁾ Halban und Frankl, Gynäkolog. Rundschau 1910.

⁵⁾ Frankl und Aschner, Gynäkolog. Rundschau 1911.

Eigenschaften besitzt. Man konnte daran denken, daß erst infolge der Autolyse derartige Substanzen im Ovarium sich gebildet haben, und es lag darum nahe, frische Organe des Genitaltrakts auf ihr Verhalten gegenüber der Blutgerinnung zu prüfen. Derartige Untersuchungen hat in ausgedehntem Maße Schickele¹⁾ ausgeführt und in erster Reihe Uterus und Ovarien von Menschen geprüft. Er kam dabei zu dem Resultat, daß die Preßsäfte von frischem Uterus und frischen Ovarien gerinnungshemmende Eigenschaften besitzen, daß dagegen Extrakte, hergestellt aus den zerkleinerten Organen, gerinnungsfördernd wirken. Er erklärt das Auftreten von gerinnungshemmenden Körpern während resp. nach der Autolyse so, daß infolge der Autolyse die Zellen gesprengt und der Zellinhalt, der die hemmende Substanz enthält, in Freiheit gesetzt wird.

Auch die Preßsäfte des Uterus und der Ovarien von Pferd, Rind, Schaf, Schwein und Hund besitzen nach Schickele eine hemmende Eigenschaft. Während aber beim Menschen die Ovarien einen stärkeren gerinnungshemmenden Preßsaft liefern als der Uterus, verhalten sich die Organe der Tiere umgekehrt. In teilweisem Gegensatz zu diesem Befund stehen die Angaben von Biedl²⁾, der bei sofortiger Prüfung von verschiedenartig bereiteten Extrakten aus Eierstockgeweben stets nur solche Effekte wahrnehmen konnte, die auf das Vorhandensein von gerinnungsfördernden Substanzen in diesen Extrakten hinwiesen.

Es schien mir deshalb wünschenswert, die Frage nach dem Vorkommen von gerinnungshemmenden und gerinnungsfördernden Substanzen im Uterus, in Ovarien und Tuben und schließlich in der Placenta definitiv zu entscheiden.

Als Methode der quantitativen Blutgerinnungsbestimmung diente mir das Verfahren von Wohlgemuth³⁾, das sich für meine Zwecke als sehr bequem und brauchbar erwies. Denn ich konnte mit seiner Hilfe die Menge der die Gerinnung beeinflussenden Substanzen quantitativ bestimmen und auf diese Weise die Wirkung der einzelnen Extrakte bequem untereinander vergleichen.

Das Verfahren⁴⁾ besteht darin, daß man eine Reihe von Reagensgläsern mit absteigenden Mengen Fibrinferment (frisches Serum) beschickt, dazu ein bestimmtes Quantum des zu untersuchenden Extraktes gibt und nun in jedes Gläschen die gleiche

¹⁾ Schickele, diese Zeitschr. 88, 169, 1912.

²⁾ Biedl, Innere Sekretion, Wien 1910.

³⁾ J. Wohlgemuth, diese Zeitschr. 27, 79, 1910.

⁴⁾ J. Wohlgemuth, Grundriß der Fermentmethoden. Verlag von Julius Springer, Berlin 1913, S. 322, Tabelle 18.

Menge (2 ccm) eines auf das 10fache verdünnten Magnesiumsulfatplasmas zufügt. In der gleichen Weise wird eine Kontrollreihe ausgeführt, bei der die Ferment- und Plasmamenge gleich groß gewählt und statt des Zusatzes von Extrakt die entsprechende Menge 1%ige kalkfreie Kochsalzlösung zugefügt wird. Beide Reihen von Reagensgläsern stellt man in den Eisschrank und nach 24 Stunden wird verglichen, um wieviel in der Hauptreihe die Fermentwirkung gefördert resp. gehemmt ist gegenüber der Kontrolle. Als Untersuchungsmaterial dienten mir Organe von Menschen und von Tieren. Vom Menschen gelang es mir leider nicht, die Organe in ganz frischem Zustande zu erhalten. Ich war ausschließlich auf Sektionsmaterial angewiesen, dagegen habe ich die Organe von Tieren (Kaninchen und Hund) unmittelbar nach Eintritt des Todes untersucht.

Die Organe wurden derartig verarbeitet, daß beispielsweise vom Uterus die Schleimhaut gesondert von der Muskulatur in einer Reibschale mit Glasstückchen gründlichst zerrieben und mit der 10fachen Menge einer 1%igen kalkfreien Kochsalzlösung unter Zusatz von Toluol extrahiert wurde, ebenso wurde mit der Muskulatur verfahren. Diese wurde zunächst mit der Schere zerkleinert, dann in einer Reibschale mit Glasstückchen zu einem Brei zerrieben und dann gleichfalls mit 1%iger kalkfreier NaCl-Lösung in demselben Verhältnis unter Zusatz von Toluol extrahiert. In der nämlichen Weise verfuhr ich mit den Ovarien, Tuben und den anderen Organen. Die so gewonnenen Extrakte wurden alsdann zentrifugiert und filtriert und in der oben beschriebenen Weise auf ihr Verhalten gegenüber dem Fibrinferment untersucht. Als Fibrinferment verwandte ich ausschließlich frisches Serum vom Hunde und ebenso benutzte ich das Hundeblood zur Herstellung von Magnesiumsulfatplasma nach der Vorschrift von Alexander Schmidt. Im einzelnen hatten die Versuche folgendes Ergebnis:

Versuch 1.

42jährige Frau, mehrgebärende. Todesursache: Nephritis. Normaler Uterus.

In der oben beschriebenen Weise wird ein Extrakt aus Uterusschleimhaut und aus Uterusmuskulatur hergestellt und auf seinen Gehalt an gerinnungshemmenden Substanzen geprüft mit folgendem Resultat:

Tabelle I.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm 1%ige NaCl-Lösung (Kontrolle)
1,0	++	++	++++
0,5	++	++	++++
0,25	+	+	++++
0,125	0 Häutchen	+	++++
0,062	—	—	+++
0,031	—	—	++
0,016	—	—	++
0,008	—	—	+
0,004	—	—	—
0,002	—	—	—
Fibrinferment =	8	16	256

Aus diesem Versuche geht hervor, daß beide Extrakte starkhemmende Eigenschaften besitzen. Denn das Hundeserum allein (Kontrolle) wirkt allein 16 mal stärker als in Gegenwart von Muskulaturextrakt und 32 mal stärker als in Gegenwart von Schleimhautextrakt. Letzteres enthält also doppelt so viel hemmende Substanz wie das Muskulaturextrakt.

Versuch 2.

39jährige Frau, erstgebärende. Todesursache: Peritonitis. Normaler Uterus.

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut und Uterusmuskulatur in der üblichen Weise.

Tabelle II.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	+++	+++	++++
0,5	+++	++	++++
0,25	+++	++	++++
0,125	+ (Häutchen)	+	++++
0,062	0	0	+++
0,031	—	—	++
0,016	—	—	++
0,008	—	—	+
0,004	—	—	0
0,002	—	—	—
Fibrinferment	16	16	256

Auch dieser Versuch ergibt eine sehr ausgesprochene Hemmung durch die Extrakte der Uterusschleimhaut und Uterusmuskulatur. Hier besteht aber kein Unterschied zwischen Schleimhaut und Muskulatur, beide hemmen gleich stark.

Versuch 3.

69jährige Frau, mehrgebärende. Todesursache: Lebercarcinom. Uterus keine wesentlichen Veränderungen.

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und aus Ovarien.

Tabelle III.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm Ovarialextrakt	0,5 ccm 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	+++	+++	0 (Häutchen)	++++
0,5	+++	+++	0	++++
0,25	+++	+++	0	++++
0,125	+++	+++	—	+++
0,062	++	+	—	+++
0,031	+	—	—	++
0,016	—	—	—	++
0,008	—	—	—	+
0,004	—	—	—	0
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	64	32	0	256

Wir sehen also auch hier eine starke, durch die Extrakte hervorgerufene Hemmung. Diese ist ganz besonders ausgeprägt bei dem Ovarialextrakt, er übertrifft die Wirkung der Uterus-extrakte um das 60fache und noch mehr. Bemerkenswert ist hier, daß in diesem Falle die Uterusmuskulatur mehr hemmende Substanz besitzt als die Uterusschleimhaut.

Versuch 4.

81jährige alte Frau, Nullipara. Todesursache: Apoplexie. Atrophischer Uterus.

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und aus Ovarien.

Tabelle IV.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm Ovarialextrakt	0,5 ccm 1 %ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	0	++++	0	++++
0,5	0	++++	0	++++
0,25	0	++++	—	++++
0,125	0	+++	—	+++
0,062	0	+++	—	+++
0,031	—	0	—	++
0,016	—	—	—	++
0,008	—	—	—	+
0,004	—	—	—	0
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	0	32	0	256

Auch hier üben die Extrakte starke Hemmung aus, besonders das Extrakt aus den Ovarien und aus der Uterusschleimhaut. Die Uterusmuskulatur ist weniger reich an hemmender Substanz.

Versuch 5.

24jähriges Mädchen. Todesursache: Pneumonie. Normaler Uterus.

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und aus den Ovarien.

Tabelle V.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm Ovarialextrakt	0,5 ccm 1 %ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	0	0	—	++++
0,5	0	—	—	++++
0,25	—	—	—	+++
0,125	—	—	—	+++
0,062	—	—	—	++
0,031	—	—	—	++
0,016	—	—	—	+
0,008	—	—	—	0
0,004	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	0	0	0	128

Hier finden wir eine ganz besonders intensive Hemmung des Fibrinfermentes. In sämtlichen 3 Reihen war in keinem Gläschen auch nur eine Spur eines Gerinnens zu beobachten

Versuch 6.

20 jähriges Mädchen. Todesursache: Phthisis pulmon. duplex.
Normaler Uterus (etwas kleiner).

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und aus den Ovarien.

Tabelle VI.

Serummenge cem	0,5 cem Schleimhaut- extrakt	0,5 cem Muskulatur- extrakt	0,5 cem Ovarialextrakt	0,5 cem 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	0	0	0	++++
0,5	0	0	0	++++
0,25	0	0	—	++++
0,125	0	—	—	++++
0,062	0	—	—	+++
0,031	0	—	—	+++
0,016	—	—	—	++
0,008	—	—	—	+
0,004	—	—	—	0
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	0	0	0	256

Auch hier ist die hemmende Wirkung der Extrakte eine ganz besonders starke; zu einer eigentlichen Gerinnselbildung war es in keinem Gläschen gekommen.

Versuch 7.

69jährige Frau, 2gebärende. Todesursache: Embolie. Uterus keine besondere Veränderungen.

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und aus den Ovarien.

Tabelle VII.

Serummenge cem	0,5 cem Schleimhaut- extrakt	0,5 cem Muskulatur- extrakt	0,5 cem Ovarialextrakt	0,5 cem 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	+++	+++	0	++++
0,5	+++	+++	0	++++
0,25	+++	+++	—	++++
0,125	+++	++	—	++++
0,062	++	++	—	+++
0,031	0	++	—	++
0,016	—	0	—	++
0,008	—	—	—	+
0,004	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	32	64	0	256

Auch hier ist eine starke hemmende Wirkung des Ovarial-extraktes vorhanden, während die anderen beiden Extrakte weniger reich an hemmenden Substanzen sind.

Versuch 8.

57jährige Frau, multipara. Todesursache: Leberabsceß. Uterus keine wesentlichen Veränderungen.

Herstellung eines Extraktes aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und aus den Ovarien.

Tabelle VIII.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm Ovarialextrakt	0,5 ccm 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	++++	0	—	++++
0,5	++++	0	—	++++
0,25	++++	0	—	++++
0,125	+++	0	—	++++
0,062	+	—	—	+++
0,031	—	—	—	+++
0,016	—	—	—	++
0,008	—	—	—	+
0,004	—	—	—	0
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	32	0	0	256

In diesem Falle enthält die Uterusmuskulatur weit mehr hemmende Substanzen als die Uterusschleimhaut; am stärksten hemmt aber auch hier der Ovarialextrakt.

Versuch 9.

40jährige Frau, mehrgebärende. Todesursache: Pneumonie. Uterus: chron. Metritis.

Extrakt aus Uterusschleimhaut. Uterusmuskulatur aus den Ovarien und aus den Tuben.

Tabelle IX.

Serummenge ccm	0,5 ccm Schleim- haut- extrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm Tuben- extrakt	0,5 ccm Ovarial- extrakt	0,5 ccm 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	++++	++++	+++	++	++++
0,5	++++	+++	+++	++	++++
0,25	++	0	++	—	++++
0,125	—	—	—	—	++++
0,062	—	—	—	—	+++
0,031	—	—	—	—	++
0,016	—	—	—	—	0
0,008	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—
Fibrinferment	8	4	8	4	64

Wir sehen hier, daß sämtliche Extrakte hemmende Wirkung haben; am wirksamsten sind die Extrakte aus den Ovarien und der Uterusmuskulatur. Weniger wirksam ist der Uterusschleimhautextrakt. Bemerkenswert ist, daß die Tube gleichfalls hemmende Substanzen besitzt, und daß die Menge derselben gleich der in dem Schleimhautextrakt erhaltenen entspricht.

Versuch 10.

42jährige Frau, nullipara. Todesursache: Unterkieferkrebs, normaler Uterus.

Extrakt aus Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur, aus den Tuben und aus den Ovarien.

Tabelle X.

Serum- menge ccm	0,5 ccm Schleim- hautextrakt	0,5 ccm Muskulatur- extrakt	0,5 ccm Tuben- extrakt	0,5 ccm Ovarial- extrakt	0,5 ccm 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	++++	+++	+++	++	++++
0,5	+++	+++	++	+	++++
0,25	++	+++	0	—	++++
0,125	0	—	0	—	++++
0,062	—	—	—	—	+++
0,031	—	—	—	—	+++
0,016	—	—	—	—	+
0,008	—	—	—	—	0
0,004	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—
Fibrin- ferment	8	8	4	4	128

Auch in diesem Falle ist die Hemmung sämtlicher Extrakte sehr beträchtlich, am wirksamsten ist der Ovarialextrakt und fast ebenso stark hemmend der Tubenextrakt.

In den beiden nächsten Fällen kamen myomatöse Uteri zur Untersuchung.

Versuch 11.

41jährige Frau, nullipara. Todesursache: unklar. Uterusmyom (interstitielles und subseröses).

Extrakt aus Uterusschleimhaut und aus dem Myom. Die Ovarien waren cystisch degeneriert und wurden deshalb nicht verarbeitet.

Tabelle XI.

Serummeng ccm	0,5 ccm Schleim- hautextrakt	0,5 ccm Myom- extrakt	0,5 ccm 1 %ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	++++	++++	++++
0,5	++	++++	++++
0,25	0	++++	++++
0,125	—	+++	++++
0,162	—	++	+++
0,031	—	0	++
0,016	—	0	++
0,008	—	—	—
0,004	—	—	—
0,002	—	—	—
Fibrinferment	4	32	128

Hier ist die myomatös degenerierte Muskulatur nicht sonderlich reich an hemmenden Substanzen, während die Schleimhaut sehr stark wirksam ist. Da der Uterus in seiner Gesamtheit degeneriert war, konnte normale Muskulatur nicht untersucht werden.

Versuch 12.

30 jährige Frau, nullipara. Todesursache: Meningitis. Uterusmyom.

Extrakt aus Uterusschleimhaut, aus der myomatösen Muskulatur und aus den Ovarien.

Tabelle XII.

Serummeng ccm	0,5 ccm Schleimhaut- extrakt	0,5 ccm Myomextrakt	0,5 ccm Ovarialextrakt	0,5 ccm 1 %ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	+	+++	0	++++
0,5	+	++	0	++++
0,25	0	+	—	++++
0,125	—	0	—	++++
0,062	—	—	—	+++
0,031	—	—	—	+++
0,016	—	—	—	++
0,008	—	—	—	++
0,004	—	—	—	0
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	4	8	0	256

Der Ovarialextrakt enthält auch hier die am meisten hemmenden Substanzen, dann folgt die Uterusschleimhaut und

dann die myomatöse Muskulatur. Auch hier war es nicht möglich, normale Uterusmuskulatur allein zu untersuchen, da der Uterus in seiner Gesamtheit myomatös degeneriert war.

Versuch 13.

7 jähriges Kind. Todesursache: Subphrenischer Absceß; Uterus infantil.

Da der Uterus sehr klein war, wurde aus dem gesamten Organ ein Extrakt hergestellt.

Tabelle XIII.

Serummenge cem	0,5 cem Uterusextrakt	0,5 cem 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	+	++++
0,5	+	++++
0,25	0	++++
0,125	0	++++
0,062	0	+++
0,031	0	+++
0,016	0	++
0,008	—	+
0,004	—	—
0,002	—	—
Fibrinferment	4	256

Auch der infantile Uterus ist reich an hemmenden Substanzen, denn wir sehen, daß die Hauptreihe hinter der Kontrolle weit zurückbleibt.

Im Anschluß an die menschlichen Organe habe ich auch die entsprechenden Organe von einem Hund und zwei Kaninchen in ganz frischem Zustande untersucht und in Übereinstimmung mit Schickele feststellen können, daß auch sie hemmende Substanzen in ihren Sexualorganen besitzen. Indes konnte ich nicht bestätigen, daß in jedem Falle die Muskulatur stärker hemmt als die Ovarien. Denn bei dem von mir untersuchten Hund ergab sich gerade das Gegenteil, beim Kaninchen dagegen war tatsächlich der Uterusextrakt stärker hemmend wirksam als der Ovarialextrakt. Das Ergebnis der Untersuchungen von tierischem Material stelle ich in folgender Tabelle zusammen.

Versuch 14.

Tabelle XIV.

Serum- menge ccm	Hündin			Kaninchen I		Kaninchen II		1%ige NaCl- Lösung (Kon- trolle)
	0,5 ccm Schleim- haut- extrakt	0,5 ccm Mus- kulatur- extrakt	0,5 ccm Ovarial- extrakt	0,5 ccm Schleim- haut- extrakt	0,5 ccm Mus- kulatur- extrakt	0,5 ccm Schleim- haut- + Mus- kulatur- extrakt	0,5 ccm Ovarial- extrakt	
1,0	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0,5	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++
0,25	+++	+++	+++	+	+++	++	+++	++++
0,125	++	++	—	0	++	+	++	++++
0,062	+	0	—	0	+	—	++	+++
0,031	0	—	—	—	—	—	—	+++
0,016	—	—	—	—	—	—	—	++
0,008	—	—	—	—	—	—	—	0
0,004	—	—	—	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—	—	—	—
Fibrin- ferment	32	16	8	8	32	16	32	128

Zusammenfassung.

Es hat sich aus sämtlichen Versuchen ergeben, daß Uterus, Tuben, Ovarien der Menschen Substanzen enthalten, die stark hemmend auf das Fibrinferment wirken. Die Substanzen sind mit Leichtigkeit aus den Organen zu extrahieren, wenn man die Organe energisch zerkleinert. Da die Organe von Leichen stammen, ist anzunehmen, daß sich schon autolytische Vorgänge in ihnen abgespielt haben und daß durch Autolyse ein Teil der hemmenden Substanzen aus dem Zellverbände in Freiheit gesetzt war. Immerhin ist in allen Fällen zu erkennen, daß, wie auch schon Schickele fand, das Ovarium gegenüber dem Uterus besonders reich an hemmenden Substanzen ist. Auch die Tuben enthalten derartige Stoffe, und zwar in nicht unerheblicher Menge, ebenso der Uterus. Hier hat sich gezeigt, daß die Extrakte aus Schleimhaut und Muskulatur von 10 Fällen viermal gleich stark wirkten, dreimal wirkte die Muskulatur stärker und dreimal die Schleimhaut.

Ich kann also die Angaben von Schickele¹⁾ nicht bestätigen, daß die Uterusschleimhaut stets reicher an hemmenden Substanzen ist als die Uterusmuskulatur. Das Vorkommen dieser hemmenden Stoffe ist aber keinesfalls an das Alter der be-

¹⁾ Schickele, diese Zeitschr. 38, 169, 1912.

treffenden Personen geknüpft, denn wir fanden dieselben in den Organen sowohl alter wie ganz junger Individuen. Ich muß darum auch der Behauptung von Schickele widersprechen, daß das charakteristische gerinnungshemmende Moment dem Uterus und den Ovarien verloren geht, wenn sie außerhalb des fortpflanzungsfähigen Alters stehen.

Auch der Uterus und die Ovarien von Tieren sind reich an gerinnungshemmenden Substanzen, und es gelang mit Leichtigkeit, durch einfache Extraktion der zerkleinerten ganz frischen Organe diese Substanzen in Lösung zu bekommen, ohne daß hier eine Autolyse vorausgegangen war.

Die Verankerung der hemmenden Substanzen in den Zellen ist demnach keine so feste, wie man aus früheren Untersuchungen annehmen sollte. Auch beim Hund trat der Unterschied zwischen Ovarien und Uterus deutlich zutage, insofern als die Ovarien weit reicher an hemmenden Substanzen waren als der Uterus.

Beim Kaninchen dagegen trafen wir mehr hemmende Substanzen im Uterus als in den Ovarien an.

II.

Untersuchungen über das Verhalten der menschlichen Placenta.

Es war von Interesse, zu untersuchen, wie ein Produkt der Uterusschleimhaut, die Placenta, sich bezüglich der Blutgerinnung verhält. Hierüber existieren Untersuchungen von Savaré¹⁾, der fand, daß das Placentagewebe ein Agens enthält, das die Blutgerinnung beschleunigt. Dieser Befund wurde von Schickele²⁾ bestätigt. Trotzdem schien es von Interesse, festzustellen, ob nicht doch in den Placentarzellen auch hemmende Substanzen enthalten sind. Diese müßten sich dann mit Sicherheit zeigen, wenn man das Placentargewebe der Autolyse aussetzt und dann extrahiert. Dementsprechend gingen wir so vor, daß wir frische menschliche Placenta in markgroße Stücke mit der Schere zerkleinerten und zunächst von Blut gründlichst befreiten, indem wir sie in fließendes Wasser brachten. Schon nach wenigen Stunden war das anhaftende Blut soweit ent-

¹⁾ Savaré, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 247, 1902.

²⁾ Schickele, diese Zeitschr. 28, 214, 1912.

fernt, daß das Gewebe fast vollkommen weiß war. Hiernach wurde ein aliquoter Teil genommen, in einem Mörser mit Glasplittern zu einem Brei fein zerrieben und nun mit der 5fachen Menge einer 1⁰/₀igen kalkfreien NaCl-Lösung unter Zusatz von Toluol extrahiert. Der Extrakt wurde in 3 Portionen geteilt; die eine Portion wurde sofort auf ihr Verhalten gegenüber dem Fibrinferment in der oben beschriebenen Weise untersucht, die zweite Portion bei Zimmertemperatur, die dritte Portion im Brutschrank stehen gelassen.

Da Savaré und Schickele gefunden hatten, daß der Placentarextrakt eine gerinnungsbefördernde Wirkung besitzt, untersuchte ich zunächst, ob in meinem Extrakt sich neben dieser Substanz auch schon fertiges Fibrinferment findet. Dies prüfte ich nach der von Wohlgemuth¹⁾ angegebenen Reihenmethode und führte mit dem frisch gewonnenen Extrakt aus drei verschiedenen Placenten folgenden Versuch aus, indem ich zur Kontrolle gleichzeitig einen Versuch mit frischem Hundeserum ansetzte:

Versuch 1.
Tabelle XV.

Extrakt- resp. Serummenge ccm	Placenta I, frischer Extrakt	Placenta II, frischer Extrakt	Placenta III, frischer Extrakt	Hunde- serum (Kontrolle)
1,0	++++	+	+	++++
0,5	—	—	—	++++
0,25	—	—	—	++++
0,125	—	—	—	++++
0,062	—	—	—	+++
0,031	—	—	—	++
0,016	—	—	—	0
0,008	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	2	2	2	64

Aus diesem Versuche geht hervor, daß der frisch gewonnene Extrakt aus drei Placenten tatsächlich fertiges Fibrinferment enthält, allerdings nur in geringen Mengen, denn nur das erste Gläschen der Versuchsreihe zeigte Gerinnung, während in den anderen Gläschen der Inhalt flüssig geblieben war. Am stärksten war

¹⁾ J. Wohlgemuth, Grundriß der Fermentmethoden, I. c.

das Gerinnsel von Placenta I, weniger von Placenta II und III. Die Kontrolle mit frischem Serum ergab das übliche Resultat, Gerinnung noch im 6. Gläschen. Dieser Befund, daß im Versuch 1 das 1. Gläschen komplett Gerinnung zeigte, das 2. dagegen schon flüssig geblieben war, erschien uns auffällig und war nur so zu erklären, daß in dem Placentarextrakt sich neben fertigem Fibrinferment noch eine die Wirkung des Fibrinfermentes hemmende Substanz finden mußte.

Um dieses zu entscheiden, verfahren wir nach Vorschrift von Wohlgemuth so, daß wir zwei Reihen von Reagensgläsern mit absteigenden Mengen von Fibrinferment, das vom Hunde stammte, beschickten und in jedes Gläschen der einen Reihe eine bestimmte Menge (0,5 ccm) Extrakt zufügten, zur Kontrollreihe dagegen die entsprechende Menge 1%ige NaCl-Lösung, und nun in sämtliche Gläser beider Reihen je 2 ccm Mg-Sulfatplasma (1:10) eintrugen. Danach wurden die Gläser auf 24 Stunden in den Eisschrank gesetzt, um dann das Resultat abzulesen. Es zeigt sich in der Tat, daß der frische Extrakt der Placenta die Wirkung des Fibrinfermentes deutlich hemmt. Diese Beobachtung konnten wir nicht bloß bei einer Placenta machen, sondern in allen von uns untersuchten Placenten haben wir mit dem frischen Extrakt eine mehr oder weniger starke Hemmung beobachtet. Das Resultat dieser Untersuchung stellen wir in folgender Tabelle zusammen.

Versuch 2.

Tabelle XVI.

Serummenge ccm	Placenta I 0,5 ccm frischer Ex- trakt	Placenta II 0,5 ccm frischer Ex- trakt	Placenta III 0,5 ccm frischer Ex- trakt	0,5 ccm 1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
1,0	++++	++++	++++	++++
0,5	++++	++++	++++	++++
0,25	++++	++++	++++	++++
0,125	+++	++++	++++	++++
0,062	0	+++	+++	+++
0,031	—	0	—	++
0,016	—	—	—	+
0,008	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—
Fibrinferment	16	32	32	128

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Extrakte aus sämtlichen Placenten starke Hemmung auf das Fibrinferment ausübten.

Dieser Befund steht in direktem Gegensatz zu den von Savaré und Schickele ermittelten Resultaten, und es fragt sich, wie diese Divergenz zu erklären ist. Wir zweifeln nicht daran, daß die Beobachtungen von Savaré und Schickele richtig sind und sich gerinnungsfördernde Substanzen in der Placenta finden. Wir möchten aber glauben, daß diese gerinnungsfördernden Substanzen von den der Placenta anhaftenden Blutbestandteilen herrühren, was auch Savaré anzunehmen scheint. Wenn man nun das Placentagewebe von dem anhaftenden Blut befreit, so kann die in dem Placentagewebe enthaltene gerinnungshemmende Substanz ungehindert in Wirksamkeit treten. Daß die Placenta besonders reich an solchen gerinnungshemmenden Substanzen ist, konnten wir in der Weise dartun, daß wir den frisch gewonnenen Placentarextrakt der Autolyse bei Zimmertemperatur und bei Brutschranktemperatur aussetzten; dabei zeigte sich, daß mit fortschreitender Autolyse die gerinnungshemmende Wirkung ständig zunahm.

So ergab der Versuch mit Placenta I folgendes Resultat:

Versuch 3.
Tabelle XVII.

Serum- menge ccm	0,5 ccm I. Placentarextrakt		0,5 ccm I. Placentarextrakt		0,5 ccm I. Placentarextrakt		1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
	bei 38° nach 48 Std.	bei 17° nach 48 Std.	bei 38° nach 96 Std.	bei 17° nach 96 Std.	bei 38° nach 7 Tagen	bei 17° nach 7 Tagen	
1,0	+++	++++	+++	++++	+ (Spur)	++++	++++
0,5	+++	++++	++	++++	—	++++	++++
0,25	++	++++	++	+++	—	+++	++++
0,125	+	+++	—	++	—	+	++++
0,062	—	—	—	—	—	—	+++
0,031	—	—	—	—	—	—	++
0,016	—	—	—	—	—	—	—
0,008	—	—	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—	—	—
Fibrin- ferment	16	16	8	16	2	16	64

Ein Blick auf diese Tabelle genügt, um zu erkennen, wie mit fortschreitender Autolyse die Menge der gerinnungshemmenden Substanz im Extrakt zunimmt, besonders in demjenigen, der bei Brutschranktemperatur (38°) gehalten wurde.

Das gleiche Resultat lieferte Placenta II:

Tabelle XVIII.

Serum- menge ccm	0,5 ccm II. Placentarextrakt		0,5 ccm II. Placentarextrakt		0,5 ccm II. Placentarextrakt		1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
	bei 38° nach 48 Std.	bei 17° nach 24 Std.	bei 38° nach 72 Std.	bei 17° nach 72 Std.	bei 38° nach 10 Tagen	bei 17° nach 10 Tagen	
1,0	++++	++++	++++	++++	Spur	++++	++++
0,5	++++	++++	++++	++++	—	++++	++++
0,25	++++	++++	+++	++++	—	++++	++++
0,125	++++	++++	++	++++	—	+++	++++
0,062	+++	+++	0	+++	—	++	+++
0,031	0	0	—	—	—	—	++
0,016	—	—	—	—	—	—	0
0,008	—	—	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—	—	—
Fibrin- ferment	32	32	18	32	0	32	64

Auch hier sehen wir eine ständige Zunahme der gerinnungshemmenden Wirkung unter dem Einfluß der Autolyse. Ebenso sehen wir bei den Extrakten der Placenta III eine erhebliche Zunahme der gerinnungshemmenden Substanzen mit fortschreitender Autolyse.

Tabelle XIX.

Serum- menge cbm	0,5 ccm III. Placentarextrakt		0,5 ccm III. Placentarextrakt		0,5 ccm III. Placentarextrakt		1%ige NaCl- Lösung (Kontrolle)
	bei 38° nach 48 Std.	bei 17° nach 48 Std.	bei 38° nach 6 Tagen	bei 17° nach 6 Tagen	bei 38° nach 10 Tagen	bei 17° nach 10 Tagen	
1,0	++++	++++	++	++++	0	++++	++++
0,5	++++	++++	++	++++	—	++++	++++
0,25	++++	++++	+	++++	—	+++	++++
0,125	+++	++++	—	+++	—	+++	++++
0,062	++	++	—	++	—	++	+++
0,031	—	—	—	—	—	—	++
0,016	—	—	—	—	—	—	—
0,008	—	—	—	—	—	—	—
0,004	—	—	—	—	—	—	—
0,002	—	—	—	—	—	—	—
Fibrin- ferment	32	32	8	32	0	32	64

Es hat sich somit in übereinstimmender Weise ergeben, daß menschliche Placenta, wenn man sie gründlichst von Blutbestandteilen befreit, ebenso wie die Uterusschleimhaut, Uterusmuskulatur und die Ovarien, eine gerinnungshemmende Substanz besitzt.

Im Anschluß an diese Versuche haben wir die autolytischen Vorgänge in den Placentarextrakten weiter verfolgt und untersucht, ob und inwieweit diese Extrakte die Fähigkeit besitzen, Pepton abzubauen. Schon Savaré hat derartige Versuche angestellt und gefunden, daß die Placenta eine starke Erepsinwirkung auszuüben imstande ist. Wir können diese Beobachtung durchaus bestätigen. Wir gingen bei unseren Versuchen so vor, daß wir die Placenta zunächst gründlichst von dem anhaftenden Blut befreiten. Das Gewebe wurde fein zerrieben und der Brei mit 1%iger kalkfreier NaCl-Lösung extrahiert. Der Extrakt wurde in zwei Portionen geteilt und zu der einen Portion 10 ccm einer Peptonlösung zugefügt, die wir uns nach der Vorschrift von Cohnheim¹⁾ hergestellt hatten, während zur Kontrollportion 10 ccm 1%ige NaCl-Lösung zugesetzt wurde. Beiden Portionen wurde sofort ein bestimmtes Quantum (10 ccm) entnommen und nach der Vorschrift von Sörensen²⁾ die Formoltitration ausgeführt. Das Resultat der Untersuchung geht aus folgender Tabelle hervor:

Tabelle XX.

Datum	Portion I		Portion II		Zunahme an formoltitrierbarem N in	
	Extrakt + 10 ccm Peptonlösung		Extrakt + 10 ccm phys. Kochsalzlösung		Portion I	Portion II
1914	1,015 ccm	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,525 ccm	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	—	—
12.2.	1,675 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,600 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,660 ccm	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
13.2.	1,675 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,600 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,660 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
14.2.	1,675 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,650 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,660 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
16.2.	1,865 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,650 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,850 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
20.2.	1,950 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,700 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,935 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
					0,125 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
					0,125 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
					0,175 "	$\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂

Wir sehen deutlich, wie von Tag zu Tag in der mit Pepton versetzten Lösung die Menge des formoltitrierbaren Stickstoffs zunimmt, während die Menge der Kontrollösung erheblich hinter ihr zurückbleibt.

¹⁾ Cohnheim, Zeitschr. f. physiol. Chemie **33**, 453, 1901.

²⁾ S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. **7**, 407, 1908.

Das gleiche Resultat ergibt der Versuch mit der Placenta II:

Tabelle XXI.

Datum	Portion I	Portion II	Zunahme an formoltitrierbarem N in	
	Extrakt + 10 ccm Peptonlösung	Extrakt + 10 ccm phys. Kochsalzlösung	Portion I	Portion II
17.2.	0,525 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,150 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	—	—
18.2.	0,950 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,225 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,425 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,075 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
20.2.	1,100 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,275 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,575 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,125 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
23.2.	1,125 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,325 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,600 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,275 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂

Auch hier sehen wir gleichfalls eine beträchtliche Zunahme des formoltitrierbaren Stickstoffs in der mit Pepton versetzten Portion gegenüber der Kontrolle. Sie übertrifft die Kontrolllösung um das Doppelte.

Ein dritter Versuch mit dem Extrakt einer anderen Placenta hat gleichfalls das Ergebnis, daß die Peptonlösung durch das in dem Extrakt enthaltene Ferment stark abgebaut wird.

Tabelle XXII.

Datum	Portion I	Portion II	Zunahme an formoltitrierbarem N in	
	Extrakt + 10 ccm Peptonlösung	Extrakt + 10 ccm phys. Kochsalzlösung	Portion I	Portion II
25.2.	0,825 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,275 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	—	—
26.2.	1,425 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,275 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,600 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,000 ccm $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
28.2.	1,450 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,350 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,625 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,075 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
4.3.	1,500 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,600 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,675 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,325 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂
7.3.	1,650 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,800 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,825 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂	0,525 " $\frac{1}{5}$ -Ba(OH) ₂

Auch hier sehen wir eine größere Zunahme des formoltitrierbaren Stickstoffs in der Hauptportion gegenüber der Kontrolle.

Wenn wir noch einmal die mit der Placenta gewonnenen Resultate überblicken, so hat sich ergeben, daß ebenso wie der Uterus, die Ovarien und die Tuben auch die Placenta gerinnungshemmende Substanzen enthält.

Dieselben sind leicht nachweisbar, denn sie lassen sich ohne Schwierigkeiten aus den Placentarzellen mit Kochsalzlösung extrahieren. Es ist nur notwendig, daß man vorher die Placenta gründlichst von den anhaftenden Blutbestandteilen befreit. Geschieht das nicht, so enthält das Extrakt so

viel gerinnungsfördernde Substanz, daß die gerinnungshemmende Wirkung vollkommen verdeckt wird.

Das ist wohl auch der Grund, weshalb man bisher die gerinnungshemmende Wirkung in den Placentarzellen nicht konstatieren konnte. Ob diese gerinnungshemmende Substanz von Wichtigkeit ist für das Flüssigbleiben des mütterlichen Blutes bei seinem Durchtritt durch die Placenta ins kindliche Gefäßsystem, mag dahingestellt bleiben.

Auch die Feststellung, daß das Placentargewebe ein Ferment enthält, das die Fähigkeit besitzt, Pepton und Albumosen in ihre niederen Spaltprodukte zu zerlegen, kann nicht ohne weiteres in Beziehung gebracht werden zu den fermentativen Vorgängen in der Placenta selbst. Denn dafür bieten sich bisher keine Anhaltspunkte. Immerhin dürfte das Vorkommen eines erepsinähnlichen Fermentes in der Placenta von Interesse sein.

Die natürliche Resistenz einiger Tiere dem Atropin gegenüber.

Von
M. A. Willberg.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Jurjew.)

(Eingegangen am 29. Juni 1914.)

Unsere Versuche mit Igeln¹⁾ ergaben, daß der Igel bedeutend resistenter dem Atropin gegenüber ist als das Dorpater Kaninchen. Diese Tatsache veranlaßte uns, an einer Reihe von Tieren Versuche anzustellen, um das Verhalten dieser Tiere dem Atropin gegenüber festzustellen.

Allgemein angenommen ist, daß die Pflanzenfresser, besonders das Kaninchen, eine große Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber besitzen. Das Verhalten verschiedener Tiere dem Atropin gegenüber ist verhältnismäßig wenig erforscht. Die meisten Arbeiten beziehen sich auf die Erforschung der Ursache der Resistenz bestimmter Tiere dem Atropin gegenüber.

Nach Richet²⁾ besitzen verschiedene Tiere eine wesentlich ungleiche Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber; am empfindlichsten ist der Mensch, danach folgen: der Affe, die Katze, der Hund, das Kaninchen, das Meerschweinchen, die Ratte, die Ziege, die Taube und das Schwein.

Fröhner³⁾ gibt an, daß die Haustiere im allgemeinen viel unempfindlicher dem Atropin gegenüber sind als der Mensch; besonders widerstandsfähig sind die Pflanzenfresser, weil bei ihnen das genannte Gift sehr schnell aus dem Organismus ausgeschieden wird. Nach letzterem Autor ist die Atropinempfindlichkeit bei Tieren mit weniger entwickeltem Nervensystem eine geringere; aus demselben Grunde sind auch junge Tiere widerstandsfähiger dem Atropin gegenüber als erwachsene.

Pferde sind nach Preuß⁴⁾ nicht besonders empfindlich dem Atropin gegenüber und vertragen leicht 0,05 bis 0,5 g dieses Giftes.

¹⁾ M. Willberg, diese Zeitschr. 48, 165 bis 166.

²⁾ Richet, zit. nach Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, 518.

³⁾ E. Fröhner, Lehrbuch der Arzneimittellehre f. Tierärzte, Stuttgart 1911, S. 87 bis 88.

⁴⁾ Preuß, zit. nach Fröhner (s. oben).

Hunde vertragen, wie Fröhner angibt, im Vergleich mit dem Menschen und dem Pferde sehr große Atropindosen, und es kann bei ihnen sogar eine Atropingewöhnung erzielt werden. Auch Kühe, Schafe und Ziegen vertragen nach demselben Autor große Mengen Belladonna-blätter. Ferner wird bei Vögeln (Hühnern, Truthühnern und Gänsen) bei subcutanen Atropingaben von 2 bis 40 mg Schlafsucht, Pupillenerweiterung, Aufregung, Erbrechen usw. beobachtet.

Ganz besonders indifferent verhalten sich die Kaninchen dem Atropin gegenüber; so fütterte Hertwig¹⁾ sie durch Wochen mit Belladonna-blättern und konnte nur eine Pupillenerweiterung feststellen. Fröhner gibt beim Kaninchen 1 g Atropin als einigermaßen sichere tödliche Dosis an.

Nach Cloetta²⁾ sind die subcutanen tödlichen Atropindosen folgende: Beim Kaninchen 0,5 g pro 1 kg des Körpergewichts, bei der Katze 0,03 g pro 1 kg, beim Hunde hingegen ist die tödliche Atropindosis um ein geringes höher als bei der Katze. Indem Cloetta die Organe der mit Atropin vergifteten Tiere untersuchte, fand er bei dem Kaninchen relativ große Atropinmengen in der Leber und im Gehirn, bei den Hunden konnte er in den genannten Organen nur einen geringen Atropingehalt feststellen. Auf Grund dieses Befundes nimmt der genannte Autor an, daß die Kaninchen nur durch ihre Eigenschaft, das Atropin im Gehirn und in der Leber zu zerstören, eine Resistenz diesem Gifte gegenüber besitzen. Auch konnte Cloetta³⁾ bei den Kaninchen eine recht bedeutende Atropingewöhnung erzielen; diese künstliche Immunität der Kaninchen wird durch ein erhöhtes Zersetzungsvermögen des Atropins im Blute und in der Leber, wie auch durch eine beschleunigte Ausscheidung durch die Nieren der genannten Tiere bedingt. Bei den Katzen konnte der Autor nur eine unbedeutende Atropingewöhnung wahrnehmen, da die Katzenleber das Atropin nur in einem geringen Maße zerstört, das Blut hingegen gar kein Zerstörungsvermögen besitzt.

Kobert⁴⁾ gibt an, daß die Katzen dem Atropin gegenüber sehr empfindlich sind, die Hunde weniger, und noch weniger Ziegen und Schafe; Kaninchen sind im Vergleich zu den anderen Tieren am wenigsten empfindlich dem Atropin gegenüber.

Calmette⁵⁾ behauptet, daß die Leukocyten des Kaninchens das Atropin aufnehmen und zerstören, doch konnte Ellinger⁶⁾ mit seinen Kontrollversuchen obiges nicht bestätigen.

¹⁾ Hertwig, zit. nach Fröhner (s. oben).

²⁾ M. Cloetta, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Supplementband 1908, S. 119 bis 125.

³⁾ M. Cloetta, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 64, 427 bis 438.

⁴⁾ R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, Stuttgart 1906, Bd. 2, S. 1046 bis 1047.

⁵⁾ A. Calmette, zit. nach Zeitschr. f. Biol. 42, 229, 1901.

⁶⁾ A. Ellinger, ebenda 42, 228 bis 241, 1901.

Wiechowski¹⁾ nimmt an, daß die natürliche Atropinimmunität der Kaninchen durch das Vermögen gewisser Körperzellen, das Atropin quantitativ zu zersetzen, bedingt wird.

Nach Vamosy²⁾ wird das Atropin in der Leber an Nucleine und Nucleoalbumine chemisch gebunden.

Woronzow³⁾ konnte feststellen, daß ein Teil des Atropins in der isolierten Leber gebunden resp. zerstört wird.

Die Versuche Fleischmanns⁴⁾ ergaben, daß das Kaninchenblut eine atropinzerstörende Eigenschaft besitzt. Letztere Eigenschaft besitzt auch das Blut anderer Tiere, doch ist sie bei verschiedenen Tierarten ungleich und hängt von der natürlichen Resistenz dieser Tiere dem Atropin gegenüber ab. Nach Fleischmann verträgt das Kaninchen subcutan oder innerlich eingeführt 0,5 bis 1,0 g Atropinsulfat pro 1 kg des Körpergewichts, doch werden hierbei große individuelle Schwankungen in den Dosen beobachtet.

Unsere Versuche⁵⁾ wie auch diejenigen Noés⁶⁾ ergaben, daß der Igel eine relativ sehr große Resistenz dem Atropin gegenüber besitzt; so werden nach unseren Beobachtungen vom Igel bis 0,46 g Atropinsulfat pro 1 kg vertragen.

Aus der angeführten Literatur ersehen wir, daß die meisten Autoren bestrebt waren, die Ursache der Atropinresistenz einiger Tiere festzustellen. Es fehlen aber meist genauere Daten über die von verschiedenen Tierarten vertragenen Atropindosen. Aus diesem Grunde erachteten wir es für nötig, bei einigen Tierarten die vertragbaren wie auch die tödlichen Atropindosen festzustellen.

Experimenteller Teil.

Zu unseren Versuchen dienten 12 erwachsene und 4 junge Hunde, 4 Katzen, 9 Kaninchen, 7 Meerschweinchen, 14 weiße Ratten, 6 weiße Mäuse, 4 Enten, 7 Hühner, 7 Tauben, 6 junge Saatkrähen (*Corvus frugilegus*) und 8 Dompfaffen (*Pyrrhula vulgaris*). Das Mercksche Atropinsulfat wurde sorgfältig bei 100° getrocknet und der Schmelzpunkt bestimmt (gleich 183°).

¹⁾ W. Wiechowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 46, 155 bis 162, 1901.

²⁾ v. Vamosy, Arch. internat. de Pharmacol. 13, 155, 1904.

³⁾ W. Woronzow, Internat. Beiträge z. Pathol. u. Ther. der Ernährungsstörungen 3, Heft 2.

⁴⁾ P. Fleischmann, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, 518 bis 526, 1910; Zeitschr. f. klin. Med. 73, 175 bis 188, 1911.

⁵⁾ M. Willberg, diese Zeitschr. 48, 165 bis 166.

⁶⁾ S. Noé, Compt. rend. Soc. Biol. 55, 40 bis 41.

Dieses Atropinsulfat wurde in einer 0,9%igen NaCl-Lösung den Tieren steril injiziert. Da aus den Tabellen nebst den Anmerkungen der Verlauf und die Resultate der Versuche leicht zu ersehen sind, verzichten wir hier der Kürze wegen auf die Wiedergabe aller Versuchsprotokolle und geben nur einige verkürzte Beispiele an.

I. Versuche mit Hunden.

A. Erwachsene Hunde.

Versuch 4.

1. III. 1912. Hund von 9,95 kg.

11^h 24'. Erhielt subcutan 0,15 g Atropinsulfat pro 1 kg, d. i. im ganzen 1,49 g.

11^h 35'. Pupillenerweiterung. Lichtscheu.

12^h 10'. Wiederholtes Erbrechen.

12^h 30'. Erregung. Heult. Läuft herum.

12^h 50'. Stärkere Erregung. Sitzt und schwankt dabei.

14^h. Idem.

18^h. Liegt. Ist ruhiger.

2. III. Körpergewicht 9,6 kg. Frißt wenig. Pupillenerweiterung.

8. III. Körpergewicht 9,7 kg. Erholte sich.

Die in Tabelle I angeführten Versuche ergaben, daß Hunde subcutan bis 0,175 g Atropinsulfat pro 1 kg vertragen und bei 0,2 g pro 1 kg eingehen.

Intravenös eingeführt vertragen Hunde mehr als 0,05 g und weniger als 0,1 g Atropinsulfat pro 1 kg. Letztere Dosis tötet Hunde in 28 Minuten, wogegen bei einer subcutanen Dosis von 0,2 g pro 1 kg der Tod erst in 3¹/₂ bis 12 Stunden erfolgt.

In die Bauchhöhle eingeführt vertragen Hunde 0,15 g Atropinsulfat und gehen bei 0,175 g pro 1 kg ein.

Hieraus folgt, daß bei subcutanen Atropingaben die Hunde die größte Widerstandsfähigkeit besitzen, bei intravenösen Gaben hingegen sind sie am empfindlichsten dem genannten Gifte gegenüber. In die Bauchhöhle eingeführt vertragen die Hunde nur unbedeutend weniger Atropin als bei der subcutanen Injektion.

Anzunehmen war, daß bei der Entgiftung resp. Zerstörung des Atropins die Leber der Hunde eine bedeutende Rolle spielt; unsere Versuche mit Atropininjektionen in die Bauchhöhle der Hunde ergeben eine nicht so stark ausgesprochene Entgiftung resp. Zerstörung des genannten Giftes in der Hundeleber.

Tabelle I.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körper- gewicht des Hundes kg	Quantum des injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg des Hundes g	Modus der Gabe	Resultat des Versuchs
1 ¹⁾	a) 24. II. 12	5,4	0,14	0,025	sub- cutan	Pupillenerweiterung. Er- regung. Mehrfaches Er- brechen. Lichtscheu. Ko- ordinationsstörung. Ge- wichtsabnahme. Erholte sich.
	b) 28. II.	4,65	0,352	0,075	"	do.
	c) 7. III.	4,7	0,94	0,2	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Erbrechen. Klo- nische Krämpfe. † nach 3 Std. 35 Min.
2	a) 25. II. 12	7,0	0,21	0,03	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Erbrechen. Ge- wichtsabnahme. Erholte sich.
	b) 29. II.	6,9	0,69	0,1	"	do.
	c) 8. III. 16. III.	6,6 6,55	1,155	0,175	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Erbrechen. Ge- wichtsabnahme. Klonische Krämpfe. Erholte sich.
3	a) 23. II. 12	4,8	0,096	0,02	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Erbrechen. Er- holte sich.
	b) 27. II.	5,0	0,25	0,05	"	do.
	c) 3. III.	4,8	0,96	0,2	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Erbrechen. Klo- nische Krämpfe. † nach ca. 12 Std.
4	1. III. 12	9,95	1,49	0,15	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Lichtscheu. Er- brechen. Gewichtsabnahme. Erholte sich.
	8. III.	9,7			"	do.
5	a) 21. V. 12	25,7	4,5	0,175	"	Pupillenerweiterung. Kloni- sche Krämpfe. † nach 28 Min.
	b) 30. V.	22,7	2,27	0,1	intra- venös	do. † nach 3 Min.
6	18. V. 12	15,8	2,37	0,15	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Klonische Krämpfe. Erbrechen. Gewichtsab- nahme. Erholte sich.
7	31. I. 13	8,3	0,42	0,05	"	Pupillenerweiterung. Licht- scheu. Schwache klonische Krämpfe. Gewichtsab- nahme. Wurde getötet.
	15. II.	7,4			"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Lichtscheu. Di- arrhöe. Gewichtsabnahme. Erholte sich.
8	16. V. 12	15,5	0,93	0,06	intra- peri- toneal	do. (nur ohne Diarrhöe).
	22. V.	15,3			"	do.
9	19. V. 12	8,2	1,558	0,19	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Prostration. † nach 27 Min.
10	28. V. 12	5,2	0,936	0,18	"	do. † nach 45 Min.
11	13. III. 13	5,35	0,936	0,175	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Lichtscheu. Kloni- sche Krämpfe. † nach 30 Min.
12	a) 12. IX. 13	6,3	0,473	0,075	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Lichtscheu. Di- arrhöe. Gewichtsabnahme. Erholte sich.
	b) 19. IX.	5,8	0,58	0,1	"	do. (nur ohne Diarrhöe).
	c) 28. IX.	5,6	0,84	0,15	"	do.
	d) 8. X.	5,75	1,006	0,175	"	Pupillenerweiterung. Er- regung. Klonische Krämpfe. † nach 38 Min.

¹⁾ In dieser wie auch in den folgenden Tabellen ist ein jedes Tier mit einer Nummer bezeichnet, die einzelnen Atropingaben aber mit Buchstaben (a, b usw.).

B. Junge Hunde.

Zu diesen Versuchen wurden 10 Wochen alte Hundewelpen benutzt.

Versuch 3.

19. I. 1913. Männlicher junger Hund von 1800 g.

- a) 12^h 35'. Erhielt subcutan 0,175 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,315 g.
 12^h 45'. Pupillenerweiterung. Schwache Erregung. Heult.
 12^h 55'. Erbrechen.
 13^h 10'. Liegt. Schwache Erregung.
 13^h 25'. Zittert am ganzen Körper.
 15^h. Idem.
 21. I. Körpergewicht 1670 g. Frißt.
 30. I. Körpergewicht 1850 g.
 b) 12^h 13'. Erhielt subcutan 0,23 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,426 g.
 12^h 16'. Pupillenerweiterung. Bellt und heult.
 12^h 20'. Liegt ruhig.
 13^h. Sitzt. Heult zuweilen.
 14^h 35'. Liegt ruhig. Hebt den Kopf beim Berühren.
 24^h. Idem.
 31. I. Körpergewicht 1600 g. Pupillenerweiterung. Frißt wenig.
 18. II. Körpergewicht 2250 g. Erholte sich.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Datum des Versuchs	Körpergew. des jungen Hundes g	Quantum des injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg des jg. Hundes g	Modus der Gabe	Resultat des Versuchs
1	a) 17. I. 13	850	0,064	0,075	intra-peritoneal	Pupillenerweiterung. Erregung. Erholte sich.
	b) 21. I.	940	0,197	0,21	subcutan	do.
	c) 6. II.	1050	0,221	0,21	intra-peritoneal	do.
2	a) 17. I. 13	1100	0,110	0,10	subcutan	do.
	b) 24. I.	1140	0,217	0,19	"	do.
	c) 6. II.	1250	0,288	0,23	intra-peritoneal	† nach 20 Min.
3	a) 19. I. 13	1800	0,315	0,175	subcutan	Pupillenerweiterung. Erregung. Erholte sich.
	b) 30. I.	1850	0,426	0,23	"	do. Gewichtsabnahme.
	c) 18. II.	2250				
4	a) 19. I. 13	960	0,096	0,10	intra-peritoneal	Pupillenerweiterung. Erregung. Erholte sich.
	b) 1. II.	1020	0,255	0,25	subcutan	† nach 2 Std. 4 Min.

Folglich besitzen junge Hunde dem Atropin gegenüber eine größere Widerstandsfähigkeit als erwachsene Hunde, und zwar

vertragen Welpen subcutan bis 0,23 g Atropinsulfat pro Kilogramm, in die Bauchhöhle eingeführt 0,21 g pro Kilogramm. Ungeachtet der wiederholten Atropininjektionen konnte bei den Welpen ein gutes Wachstum wie auch eine Gewichtszunahme beobachtet werden.

II. Versuche mit Katzen.

Versuch 2.

19. IX. 1913. Katze von 2,7 kg.

a) 12^h 57'. Erhielt subcutan 0,1 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,27 g.

13^h 5'. Pupillenerweiterung. Erregung.

13^h 35'. Idem.

14^h 17'. Idem.

20. IX. Körpergewicht 2,65 kg. Starke Pupillenerweiterung. Erregung.

23. IX. Körpergewicht 2,35 kg. Idem. Diarrhöe.

2. X. Körpergewicht 2,14 kg.

16. X. Körpergewicht 2,47 kg.

b) 13^h 28'. Erhielt subcutan 0,14 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,346 g.

13^h 35'. Starke Pupillenerweiterung. Starke Erregung.

15^h 30'. Liegt. Bei einer Berührung erfolgen klonische Krämpfe im ganzen Körper.

17^h 23'. Idem.

17. X. Körpergewicht 2,32 kg. Pupillenerweiterung. Erregung.

23. X. Körpergewicht 2,36 kg.

5. XI. Körpergewicht 2,60 kg. Erholte sich.

Tabelle III.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körper- gewicht der Katze kg	Quantum des subcutan in- jizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg der Katze g	Resultat des Versuchs
2	a) 19. IX. 13	2,70	0,27	0,10	Pupillenerweiterung. Er- regung. Diarrhöe (4 Tage). Erholte sich.
	b) 16. X. 5. XI.	2,47 2,60	0,346	0,14	do. (nur ohne Diarrhöe).
3	a) 21. IX. 13	3,80	0,475	0,125	Pupillenerweiterung. Erregung. Gewichtsab- nahme. Erholte sich.
	b) 16. X.	3,50	0,455	0,13	† nach ca. 12 Std.
1	15. V. 12	2,17	0,326	0,15	† nach 3 Std. 33 Min.
4	28. IX. 13	1,81	0,272	0,15	† nach 2 Std. 18 Min.

Mithin vertragen Katzen subcutan 0,125 bis 0,14 g Atropinsulfat pro Kilogramm des Körpergewichtes und gehen ein bei 0,13 bis 0,15 g pro Kilogramm.

Die Katze galt als besonders empfindlich dem Atropin gegenüber. Vergleichen wir erwachsene Hunde mit Katzen, so sehen wir, daß die Katze verhältnismäßig um ein Geringes dem Atropin gegenüber empfindlicher ist als der Hund.

III. Versuche mit Kaninchen.

Versuch 9.

30. IV. 1913. Kaninchen von 1110 g.

11^h 35'. Erhielt subcutan 0,45 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,5 g.

11^h 48'. Pupillenerweiterung.

2. V. Körpergewicht 1110 g.

25. V. Körpergewicht 1270 g. Erholte sich.

Tabelle IV.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körper- gewicht des Kaninchens g	Quantum des subcutan in- jizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg des Kaninchens g	Resultat des Versuchs
1	10. II. 12	1850	0,555	0,30	† nach ca. 60 Std.
	12. II.	1770			
2	23. II. 12	2260	0,565	0,25	† nach 5 × 24 Std.
	28. II.	1970			
3	26. III. 13	1620	0,324	0,20	Pupillenerweiterung. Gew.- Abnahme. Erholte sich.
	2. V.	1800			
4	26. III. 13	1970	0,493	0,25	† nach 2 Std. 41 Min.
5	30. III. 13	2170	0,543	0,25	Pupillenerweiterung. Erholte sich.
	2. V.	2150			
6	25. IV. 13	1460	0,438	0,30	do.
	25. V.	1550			
7	27. IV. 13	930	0,372	0,40	do.
	25. V.	840			
8	29. IV. 13	2100	1,05	0,50	† nach 33 Min.
9	30. IV. 13	1110	0,50	0,45	Pupillenerweiterung. Erholte sich.
	25. V.	1270			

Zu obigen Versuchen benutzten wir Dorpater Kaninchen (Versuche 1 bis 4) und Kaninchen aus Luga (Gouvernement St. Petersburg) (Versuche 5 bis 9).

Unsere Kaninchenversuche ergaben, daß Kaninchen verschiedener Gegenden eine verschiedene Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber besitzen. Die Dorpater Kaninchen

vertragen subcutan nur 0,2 g Atropinsulfat pro Kilogramm, größere Dosen wirken schon tödlich. Lugasche Kaninchen dagegen vertragen 0,45 g des genannten Giftes pro Kilogramm und gehen erst bei 0,5 g pro Kilogramm ein. Folglich sind die Lugaschen Kaninchen mehr als 2 mal widerstandsfähiger als die Dorpater Kaninchen.

IV. Versuche mit Meerschweinchen.

Versuch 2.

16. II. 1913. Meerschweinchen von 735 g.

11^h 38'. Erhielt subcutan 0,4 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,294 g.

12^h 8'. Pupillenerweiterung. Unbedeutende Erregung.

18. II. Körpergewicht 635 g. Blutige Diarrhöe.

17. III. Körpergewicht 747 g. Erholte sich.

Tabelle V.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergew. des Meer- schweinchens g	Quantum des injizierten Atropinsulfats g	Dosis d. Atro- pinsulfats pro 1 kg d. Meer- schweinchens g	Modus der Gabe	Resultat des Versuchs
1	{ 15. II. 13 11. IV.	830 825	0,249	0,3	subcutan	Pupillenerweiterung. Ge- ringe Erregung. Er- holte sich.
2	{ 16. II. 13 17. IV.	735 747	0,294	0,4	"	do.
3	{ 18. II. 13	600	0,300	0,5	"	† nach 8 Std. 3 Min.
4	{ 16. III. 13 18. III.	710 585	0,284	0,4	"	† nach ca. 48 Std.
5	{ a) 16. III. 13 b) 25. IV.	550 560	0,193 0,224	0,35 0,4	" intra- peritoneal	Pupillenerweiterung. Lichtscheu. Erholte sich. † nach 81 Min.
6	{ 23. III. 13 24. IV.	505 645	0,126	0,25	"	Pupillenerweiterung. Ge- ringe Erregung. Er- holte sich.
7	{ 26. III. 13 27. IV.	620 625	0,217	0,35	"	do.

Folglich vertragen Meerschweinchen subcutan 0,35 bis 0,4 g Atropinsulfat pro Kilogramm und gehen bei 0,4 bis 0,5 g pro Kilogramm ein. In die Bauchhöhle injiziert vertragen sie bis 0,35 g und sterben bei 0,4 g Atropinsulfat pro Kilogramm.

Hieraus ersehen wir, daß bei den Meerschweinchen die Einführungsart des genannten Giftes keine besondere Rolle spielt, da die Dosendifferenz eine recht kleine ist.

V. Versuche mit weißen Ratten.

Tabelle VI.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körper- gewicht der weißen Ratte g	Quantum des injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg der weißen Ratte g	Modus der Gabe	Resultat des Versuchs
1 { a)	31. V. 12	420	0,084	0,2	subcutan	Pupillenerweiterung. Er- holte sich.
1 { b)	16. VI.	405	0,162	0,4	"	do. Wurde getötet.
2	1. XI.	445				
2	19. II. 13	130	0,052	0,4	"	† nach ca. 12 Std. (Ein krankes Tier mit Para- siten in der Leber!)
3	19. II. 13	210	0,095	0,45	"	Pupillenerweiterung. Er- holte sich
4 {	3. IX.	215				
4 {	25. II. 13	230	0,115	0,5	"	do.
4 {	3. IX.	243				
5 {	26. II. 13	170	0,094	0,55	"	do.
5 {	3. IX.	190				
6 {	27. II. 13	157	0,094	0,6	"	do. (Wurde am 10. Tage durch andere Ratten tödlich verwundet und ging ein.)
6 {	10. III.	155				
7 {	28. II. 13	205	0,133	0,65	"	Pupillenerweiterung. Er- holte sich.
7 {	3. IX.	218				
8 {	1. III. 13	205	0,154	0,75	"	† nach 72 Std.
8 {	4. III.	175				
9 {	9. III. 13	193	0,135	0,7	"	Pupillenerweiterung. Er- holte sich. (Wurde am 10. Tage durch andere Ratten tödlich verwun- det und ging ein.)
9 {	19. III.	173				
10 {	16. V. 13	185	0,1295	0,7	"	Pupillenerweiterung. Er- holte sich.
10 {	3. IX.	200				
11	14. I. 14	135	0,095	0,7	intra- peritoneal	† nach 9 Min.
12	14. I. 14	130	0,078	0,6	"	† nach 10 Min.
13 {	17. I. 14	105	0,037	0,35	"	Pupillenerweiterung. Er- holte sich.
13 {	10. III.	120				
14 {	17. I. 14	190	0,095	0,5	"	do.
14 {	10. III.	210				

Eine bemerkenswerte bedeutende Resistenz dem Atropin gegenüber besitzen weiße Ratten, indem sie subcutan 0,7 g Atropinsulfat pro Kilogramm vertragen und erst bei einer Dosis von 0,75 g pro Kilogramm sterben.

In die Bauchhöhle eingeführt vertragen weiße Ratten 0,5 g Atropinsulfat pro Kilogramm und gehen bei einer Dosis von 0,6 g pro Kilogramm ein.

Folglich besitzen die Nagetiere — weiße Ratten — eine bedeutend größere Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber als die Pflanzenfresser — Kaninchen.

VI. Versuche mit weißen Mäusen.

Tabelle VII.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht der weißen Maus g	Quantum des subcutan injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg d. weißen Maus g	Resultat des Versuchs
1	18. II. 13	23	0,012	0,5	+ nach ca. 12 Std.
2	18. II.	21	0,016	0,75	+ " " 12 "
3	18. II.	21	0,021	1,0	+ " " 8 "
4	1. III.	17	0,0085	0,5	+ " 1 Std. 14 Min.
5	1. III.	20	0,008	0,4	+ " 2 " 43 "
6 {	1. III.	19	0,006	0,3	Erholte sich.
	28. III.	21			

Wie aus Tabelle VII ersichtlich, vertragen weiße Mäuse subcutan nur 0,3 g Atropinsulfat pro Kilogramm und gehen bei 0,4 g pro Kilogramm ein.

Besonders interessant ist es, daß die den Ratten nahe verwandten weißen Mäuse ca. 2 bis $2\frac{1}{2}$ mal weniger widerstandsfähig dem Atropin gegenüber sind als die weißen Ratten.

VII. Versuche mit Enten.

Versuch 4.

12. XI. 1913. Ente von 1920 g.

13^h 55'. Erhielt subcutan 0,25 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,48 g.

14^h 15'. Pupillenerweiterung. Erregung.

14^h 30'. Liegt, kann den Kopf nicht heben. Reflexe abgeschwächt.

16^h 30'. Klonische Krämpfe.

17^h 00'. Tod.

Sektion. Junges, gut genährtes Tier. Die Gefäße der inneren Organe sind stark erweitert.

Tabelle VIII.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht der Ente g	Quantum des eingeführten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg d. Ente g	Modus der Gabe	Resultat des Versuchs
1	a) 7. XII. 12	2300	0,1	0,043	per os	Pupillenerweiterung. Erregung.
	b) 18. XII.	2200	0,4	0,18	"	do. und Erbrechen.
	c) 29. I. 13	2200	0,22	0,1	subcutan	Pupillenerweiterung. Erregung.
	d) 13. II.	2340	0,351	0,15	"	do.
	e) 15. II.	2100	1,05	0,5	"	† nach 31 Min.
2	a) 7. XII. 12	2200	0,192	0,09	per os	Pupillenerweiterung. Erregung.
	b) 18. XII.	2150	0,301	0,14	"	do.
	c) 24. I. 13	2400	0,12	0,05	subcutan	do.
	d) 14. II.	2000	0,4	0,2	"	do.
	e) 13. III.	2200	0,66	0,3	"	† nach 2 1/2 Std.
3	5. XI. 13	2070	0,621	0,3	"	† „ 3 Std. 35 Min.
4	12. XI. 13	1920	0,48	0,25	"	† „ 3 „ 3 „

Folglich vertragen Enten subcutan 0,2 g Atropinsulfat per Kilogramm und gehen bei 0,25 g per Kilogramm ein.

Innerliche Gaben von 0,18 g Atropinsulfat per Kilogramm rufen bei den Enten Erbrechen hervor; aus diesem Grunde wurden die Versuche in dieser Richtung nicht fortgesetzt.

VIII. Versuche mit Hühnern.

Versuch 6.

24. X. 1913. Huhn von 1480 g.

12^h 30'. Erhielt subcutan 0,75 g Atropinsulfat pro 1 Kilogramm, d. i. im ganzen 1,11 g.

12^h 55'. Pupillenerweiterung. Erregung. Steht.

12^h 59'. Sitzt und gackert.

13^h 10'. Liegt. Schwache klonische Krämpfe.

13^h 30'. Stärkere klonische Krämpfe. Beschleunigte Atmung. Reflexe abgeschwächt.

14^h 10'. Idem.

18^h 00'. Liegt. Keine Krämpfe mehr.

25. X. Körpergewicht 1470 g. Pupillenerweiterung. Geht herum und frisst.

2. XII. Körpergewicht 1400 g. Erholte sich.

Tabelle IX.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht des Huhnes g	Quantum des subcutan injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg des Huhnes g	Resultat des Versuchs
1	a) 8. V. 13	1700	0,34	0,2	Pupillenerweiterung. Erregung.
	b) 14. V.	1700	0,51	0,3	do.
	c) 18. V.	1700	1,02	0,6	do. und klonische Krämpfe.
	19. V.	1650			Kurze Prostration. Erholte sich.
	2. VI.	1800			
2	a) 9. V. 13	1700	0,374	0,22	Pupillenerweiterung. Erregung.
	b) 16. V.	1700	0,85	0,5	do.
	c) 20. V.	1620	1,053	0,65	do. und Diarrhöe. Erholte sich.
	2. VI.	1650			
3	a) 10. V. 13	2500	0,625	0,25	Pupillenerweiterung. Erregung.
	b) 17. V.	2400	1,68	0,7	† nach 2 Std. 48 Min.
4	a) 21. V. 13	1940	1,358	0,7	Pupillenerweiterung. Erregung.
	b) 27. V.	1700			Klonische Krämpfe. Prostration. Diarrhöe. Starke Gewichtsabnahme. Erholte sich.
	17. IX.	1520			
5	24. V. 13	2310	1,733	0,75	† nach 37 Min.
6	24. X. 13	1480	1,11	0,75	Pupillenerweiterung. Erregung.
	2. XII.	1400			Klonische Krämpfe. Prostration. Erholte sich.
7	24. X. 13	1500	1,05	0,7	† nach 1 Std. 17 Min. (bei der Sektion eine kinderfaustgroße Ovariumcyste gefunden).

Die Hühner besitzen eine sehr hohe Resistenz dem Atropin gegenüber: sie vertragen subcutan 0,7 g Atropinsulfat pro Kilogramm, in einem Falle sogar 0,75 g (vgl. Versuch 6).

Als sicher tödliche Dosis muß eine größere Dosis als 0,75 g Atropinsulfat pro Kilogramm angenommen werden.

Der Versuch 3 ist als vorläufiger anzusehen; im Versuch 7 war das Tier krank (siehe Tabelle VII).

IX. Versuche mit Tauben.

Versuch 6.

18. V. 1913. Taube von 350 g.

11^h 10'. Erhielt subcutan 0,21 g Atropinsulfat pro Kilogramm, d. i. im ganzen 0,074 g.

11^h 14'. Pupillenerweiterung. Erregung.

11^h 45'. Liegt und kann den Kopf nicht heben.

12^h 40' bis 14^h 15'. Leichte klonische Krämpfe.

19^h 00'. Steht. Sonst normal.

19. V. Körpergewicht 320 g.

28. V. Körpergewicht 340 g. Erholte sich.

Tabelle X.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht der Taube g	Quantum des subcutan injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg der Taube g	Resultat des Versuchs
1	14. III. 13	317	0,079	0,25	Pupillenerweiterung. Kloni- sche Krämpfe. Prostration. † nach 4 Std. 25 Min.
2 { a)	2. V. 13	340	0,068	0,2	Pupillenerweiterung. Krämpfe Prostration. Erholte sich. † nach 2 Std. 6 Min.
	27. V.	330	0,076	0,23	
3	3. V. 13	320	0,074	0,23	† „ 7 „ 25 „
4	4. V. 13	340	0,071	0,21	† „ ca. 72 Std.
5	7. V. 13	340	0,071	0,21	† „ 3 Std. 10 Min.
6 {	18. V. 13	350	0,074	0,21	Pupillenerweiterung. Erregung. Klonische Krämpfe. Erholte sich.
	28. V.	340			
7 {	27. V. 13	290	0,061	0,21	do. und Erbrechen.
	10. V.	280			

Mithin vertragen die Tauben subcutan bis 0,21 g Atropin-
sulfat pro Kilogramm und gehen bei 0,21 bis 0,23 g pro Kilo-
gramm ein. Folglich sind die Tauben und Enten fast gleich
widerstandsfähig dem Atropin gegenüber und $3\frac{1}{2}$ mal empfind-
licher dem genannten Gifte gegenüber als die Hühner.

X. Versuche mit jungen Saatkrähen (*Corvus frugilegus*).

Tabelle XI.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht der jungen Saatkrähe g	Quantum des eingeführten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg der jung. Saatkrähe g	Modus der Gabe	Resultat des Versuchs
1	30. IV. 13	280	0,1	0,357	per os	† nach 12 Std.
2 {	2. V. 13	310	0,05	0,161	(in Fleisch)	Pupillenerweiterung. Erregung. Erbrechen. Erholte sich.
	12. V.	337			„	
3	3. V. 13	265	0,06	0,226	„	† nach 3 Std. 37 Min.
4	4. V. 13	285	0,066	0,23	subcutan	† „ ca. 12 Std.
5	6. V. 13	295	0,059	0,2	„	† „ $1\frac{1}{2}$ „
6	6. V. 13	280	0,056	0,2	„	† „ ca. 12 „

Junge Saatkrähen vertragen subcutan weniger als 0,2 g Atropinsulfat pro Kilogramm des Körpergewichtes.

Bei innerlichen Gaben vertragen die genannten Vögel nur 0,161 g Atropinsulfat pro Kilogramm und sterben bei 0,226 g pro Kilogramm. Die innerlichen Atropingaben verursachten bei den jungen Saatkrähen stets Erbrechen, so daß auf diesem Wege ein Teil des eingeführten Giftes aus dem Organismus entfernt werden konnte.

Aus letzterem Grunde können die innerlichen Atropindosen der jungen Saatkrähen nur als annähernde bezeichnet werden.

Doch können wir immerhin feststellen, daß die jungen Saatkrähen im Vergleich mit den Hühnern, Enten und Tauben eine größere Empfindlichkeit dem Atropin gegenüber besitzen als obige erwachsene Vögel.

XI. Versuche mit Dompfaffen (*Pyrrhula vulgaris*).

Tabelle XII.

Ver- such Nr.	Datum des Versuchs	Körpergewicht des Dompfaffen g	Quantum des subcutan injizierten Atropinsulfats g	Dosis des Atropinsulfats pro 1 kg des Dompfaffen g	Resultat des Versuchs
1	15. III. 13	30	0,006	0,2	Momentaner Tod.
2 {	15. III.	27	0,0027	0,1	Erholte sich.
	1. V.	27			
3 {	16. III.	35	0,0042	0,12	do.
	1. V.	35			
4 {	16. III.	30	0,0045	0,15	† nach 12 × 24 Std.
	28. III.	24			
5 {	19. III.	30	0,006	0,2	† nach ca. 60 Std.
	22. III.	20			
6 {	21. III.	30	0,0053	0,175	† nach ca. 6 × 24 Std.
	27. III.	22			
7	1. IV.	33	0,0053	0,16	Krämpfe, † nach 18 Min.
8	1. IV.	30	0,0053	0,175	† nach 4 Min.

Die Dompfaffen vertragen subcutan nur 0,12 g Atropinsulfat pro Kilogramm. Eine Dosis von 0,15 g pro Kilogramm schwächt die Dompfaffen dermaßen, daß noch am 12. Tage der Tod eintritt. Bei einer Dosis von 0,16 g Atropinsulfat pro Kilogramm sterben die Dompfaffen in 18 Minuten.

Unter allen von uns untersuchten Vögeln sind die Dompfaffen die kleinsten und zugleich auch die allerempfindlichsten dem Atropin gegenüber.

Zusammenfassung.

In der Tabelle XIII sind die Resultate aller unserer Versuche zusammengestellt mit Angabe der maximalen, nicht tödlich wirkenden Dosen und der minimalen tödlichen Dosen der von uns in bezug auf die Atropinsulfatwirkung untersuchten Tiere.

Tabelle XIII.

Tierart	Zahl der Versuche	Modus der Einführung	Dosis des Atropinsulfats in g pro 1 kg des Tieres	
			Dosis tolerata	Dosis letalis
Weißer Ratten .	10	subcutan	0,7	0,75
	4	intraperitoneal	0,5	0,6
Kaninchen . .	9	subcutan	0,2—0,45	0,25—0,5
	4	"	0,35—0,4	0,4—0,5
Meerschweinchen	3	intraperitoneal	0,35	0,4
Weißer Mäuse .	6	subcutan	0,3	0,4
		"	0,23	0,25
Hunde { Junge	4	intraperitoneal	0,21	0,23
	4	subcutan	0,175	0,2
Hunde { Erwachsene	3	intravenös	mehr als 0,05	weniger als 0,1
	5	intraperitoneal	0,15	0,175
Katzen	4	subcutan	0,125—0,14	0,13—0,15
Hühner	7	"	0,7—0,75	0,75
Enten	4	per os	mehr als 0,18	—
		subcutan	0,2	0,25
Tauben	7	"	0,2—0,21	0,21—0,23
		per os	0,161	0,226
Junge Saatkrähen	6	subcutan	weniger als 0,2	weniger als 0,2
Dompfaffen . .	8	"	0,12	0,15

Indem wir unsere Resultate vergleichen, ersehen wir, daß weiße Ratten und Hühner eine ungewöhnlich große Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber besitzen.

Früher galt das Kaninchen als das am meisten widerstandsfähige Tier dem Atropin gegenüber. Diese Annahme wurde folgendermaßen erklärt: das pflanzenfressende Kaninchen hat, indem es Belladonnablätter zur Nahrung gebraucht, durch Gewöhnung eine natürliche Immunität erworben.

Aus unseren Versuchen an Igeln¹⁾ geht hervor, daß der

¹⁾ M. Willberg, l. c.

Igel ebenso resistent dem Atropin gegenüber ist wie das Kaninchen.

Vorliegende Versuche ergeben aber, daß weiße Ratten und Hühner ca. $1\frac{1}{2}$ mal dem Atropin gegenüber widerstandsfähiger sind als das Kaninchen. Wodurch die hohe Widerstandsfähigkeit der Hühner und weißen Ratten dem Atropin gegenüber bedingt ist, bleibt fürs erste unentschieden.

Was weiter die Kaninchen betrifft, so ist noch hervorzuheben, daß Kaninchen verschiedener Gegenden eine verschiedene Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber besitzen: die Dorpater Kaninchen sind ca. 2 mal empfindlicher als die Lugaschen.

Meerschweinchen sind auch recht resistent dem Atropin gegenüber und vertragen fast ebensoviel Atropin wie die Lugaschen Kaninchen.

Bemerkenswert ist auch, daß die den weißen Ratten nah verwandten weißen Mäuse 2 bis $2\frac{1}{2}$ mal empfindlicher dem Atropin gegenüber sind als die Ratten.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß junge Hunde bedeutend widerstandsfähiger dem Atropin gegenüber sind als erwachsene. Letztere Tatsache steht vollständig im Einklang mit Fröhners Beobachtung, daß junge Tiere mehr Atropin vertragen als erwachsene.

Bei den Vögeln hingegen sind junge Tiere anscheinend empfindlicher als erwachsene: unsere Atropinversuche an jungen Saatkrähen ergaben, daß diese weniger Atropin vertragen als erwachsene Vögel (Hühner, Enten und Tauben).

Die Katze gilt allgemein als besonders empfindlich dem Atropin gegenüber, doch können wir feststellen, daß der Unterschied in den Atropindosen der erwachsenen Hunde und der Katzen kein sehr bedeutender ist.

Verschiedene Vögel besitzen nach unseren Versuchen eine ungleiche Widerstandsfähigkeit dem Atropin gegenüber. An erster Stelle stehen hier die Hühner, die ca. $3\frac{1}{2}$ mal widerstandsfähiger dem Atropin gegenüber sind als die Enten und Tauben; andererseits sind die Dompfaffen 5 bis 6 mal empfindlicher dem genannten Gifte gegenüber als die Hühner. Wodurch die hohe Widerstandsfähigkeit der Hühner im Vergleich zu den anderen Vögeln bedingt ist, bleibt fürs erste auch unentschieden.

Eine vorhergehende Arbeit betreffend die Resistenz verschiedener Tiere gegenüber dem Arsen¹⁾ ergab, daß je kleiner das Tier und je stärker der Stoffwechsel bei diesem Tier, es desto widerstandsfähiger dem Arsen gegenüber ist. So ist die Maus bei unseren Arsenversuchen das kleinste Tier und besitzt die größte Widerstandsfähigkeit dem Arsen gegenüber.

Bei unseren Atropinversuchen finden wir keine derartige Abhängigkeit der Resistenz der Tiere von der Körpergröße resp. der Intensivität des Stoffwechsels: Das kleinste Tier in unseren Atropinversuchen ist die weiße Maus, die bedeutend empfindlicher dem Atropin gegenüber ist als weiße Ratten und Hühner.

Im Vergleich mit dem Menschen tritt die elektive Resistenz einiger Tiere dem Atropin gegenüber noch schärfer hervor (siehe Tabelle XIV).

Tabelle XIV.

Tierart	Dosis tolerata des Atropin- sulfats pro 1 kg des Tieres	Die ent- sprechende Dosis berech- net pro 70 kg eines Men- schen, wäre	Die minimale letale Dosis d. Menschen [n. Kobert ²⁾] beträgt	Folglich ist die genannte Tierart resistenter als der Mensch
	g	g	g	
Hühner	0,75	52,5	0,13	404 mal
Weißer Ratten . .	0,7	49,0	0,13	377 "
Kaninchen	0,45	31,5	0,13	242 "
Meerschweinchen .	0,4	28,0	0,13	215 "
Weißer Mäuse . . .	0,3	21,0	0,13	162 "
Junge Hunde . . .	0,23	16,1	0,13	124 "
Tauben	0,21	14,7	0,13	113 "
Enten	0,2	14,0	0,13	108 "
Erwachsene Hunde	0,175	12,25	0,13	94 "
Junge Saatkrähen .	0,161	11,27	0,13	87 "
Katzen	0,14	9,8	0,13	75 "
Dompfaffen	0,12	8,4	0,13	65 "

Ein Mensch von 70 kg Körpergewicht müßte bei einer gleichen Widerstandsfähigkeit 70mal mehr Atropin vertragen, als ein Huhn von 1 kg Körpergewicht. Das Huhn verträgt bis 0,75 g Atropinsulfat pro Kilogramm. Bei einer gleichen Resistenz müßte der Mensch 52,5 g Atropinsulfat vertragen. In

¹⁾ M. Willberg, diese Zeitschr. 51, 231 bis 252.

²⁾ R. Kobert, Lehrb. d. Intoxikationen. Stuttgart 1906.

der Norm verträgt der Mensch nicht ohne schwere Vergiftungserscheinungen resp. mit darauffolgendem Tode mehr als 0,13 g Atropinsulfat (gerechnet auf ca. 70 kg).

Teilen wir nun 52,5 auf 0,13, so finden wir, daß das Huhn 404mal resistenter dem Atropin gegenüber ist als der Mensch. Die gleiche Art der Berechnung ergibt, daß weiße Ratten 377mal, Kaninchen 242mal und Dompfaffen nur 65mal resistenter dem Atropin gegenüber sind als der Mensch.

Die minimale tödliche Dosis des Atropins beim Menschen ist natürlich nicht genau bekannt, so daß vorliegende vergleichende Berechnungen in Tabelle XIV keinen Anspruch auf besondere Genauigkeit haben. Sie dienen nur zu einer ungefähren vergleichenden Bewertung der Widerstandsfähigkeit verschiedener Tiere dem Atropin gegenüber.

Über Verbindungen vom Typus der Chondroitinschwefelsäure.

Von

Federico Alzona (Modena).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 29. Juni 1914.)

I.

Die von C. Th. Mörner¹⁾ aus Knorpelsubstanz isolierte Chondroitinsäure stellt einen besonderen Typus der am Gewebesaufbau beteiligten Substanzen dar. Sie ist eine kolloide Esterschwefelsäure, die bei Spaltung mit starken Säuren neben Schwefelsäure ein reduzierendes, stickstoffhaltiges Kohlenhydrat liefert, Eiweiß und Leim in essigsaurer Lösung fällt, in absolutem Alkohol und in Eisessig unlöslich ist.

Verbindungen von gleichen oder doch sehr ähnlichen Eigenschaften sind auch sonst im Tierkörper unter normalen oder pathologischen Verhältnissen nachgewiesen, so in den inneren Schichten der Aortenwand²⁾, in amyloiddegenerierten Organen³⁾, im Harn⁴⁾, im Knochen⁵⁾, im Nackenband⁶⁾, in der Magenschleimhaut⁶⁾, in der Submaxillaris⁷⁾, im Carcinomgewebe⁷⁾, im Sehnenmucin⁷⁾, in der Milz⁸⁾, in der Milchdrüse⁹⁾, in der normalen Leber⁹⁾, im Pankreas⁹⁾, in der Niere⁹⁾, im Eiter¹⁰⁾,

¹⁾ C. Th. Mörner, Upsala, Läkareförenings förhandlingar 24, 100; Jahresber. f. Tierchem. 1888, 217; Skandin. Arch. f. Physiol. 1, 210, 1889.

²⁾ C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 361, 1894.

³⁾ Oddi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 23, 384, 1894.

⁴⁾ K. A. H. Mörner, Skand. Arch. f. Physiol. 6, 332, 1895.

⁵⁾ C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 317, 1897.

⁶⁾ Krawkow, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 40, 200, 1897.

⁷⁾ Levene, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 395, 1900; 39, 1, 1903.

⁸⁾ Levene, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 400, 1903.

⁹⁾ Levene, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 386, 1905.

¹⁰⁾ Mandel und Levene, diese Zeitschr. 4, 78, 1907.

im Hautmucoid¹⁾, im Mucin des Nabelstrangs¹⁾, im Magenschleim²⁾ und in der Sclera³⁾. Indes ist bloß die aus Knorpelsubstanz dargestellte Verbindung, die Chondroitinschwefelsäure Schmiedebergs, genauer untersucht; ob die übrigen analog sich verhaltenden Verbindungen damit identisch sind, ist unsicher.

Es empfiehlt sich, die diesem Typus angehörigen Verbindungen, solange ihre Konstitution nicht aufgeklärt ist, unter einem nicht weiter präjudizierenden Gruppennamen zusammenzufassen. Als solchen hat mir Herr Prof. Hofmeister die auf Moerners Entdeckung zurückgehende Bezeichnung „Chondroitsäuren“ vorgeschlagen.

In der nachstehend mitgeteilten Untersuchung ging ich auf Wunsch von Prof. Hofmeister zunächst darauf aus, die Verbreitung der Chondroitsäuren im Tierkörper weiter zu verfolgen. Dabei ergab sich bald die Notwendigkeit, die vorhandenen Nachweis- und Isolierungsmethoden für bestimmte Fälle zu verbessern.

Die Hindernisse, die sich der Reindarstellung der Chondroitinschwefelsäure und ihrer Homologen aus protoplasma-reichen Geweben entgegenstellen, sind einmal ihre relative Unbeständigkeit gegenüber Säuren und Alkalien, sodann die Schwierigkeit, gleichzeitig anwesende Eiweiß- und Nucleinstoffe ohne allzu großen Verlust an Substanz vollständig zu entfernen. Fällt man die Eiweißkörper bei schwach saurer Reaktion, so geht die Chondroitinschwefelsäure wegen ihrer Fähigkeit, sich mit Proteiden zu verbinden, in den Niederschlag über; stark saure Reaktion greift aber die Säure selbst an. Fällt man bei alkalischer Reaktion mit Alkohol (z. B. in Schmiedebergs Verfahren), so tritt bei längerer Einwirkung des Alkalis teilweise Abspaltung von Schwefelsäure ein. Schlägt man die koagulablen Eiweißkörper bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion als Barytverbindung nieder (Verfahren von C. Th. Mörner), so treten große Verluste durch Anhaften des kolloiden Chondroitinsulfats an den sehr voluminösen Niederschlag ein. Relativ günstig gestaltet sich die Trennung mit Hilfe der von Levene

¹⁾ van Lier, Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 183, 1909.

²⁾ López-Suárez, diese Zeitschr. 56, 167, 1913.

³⁾ Dr. Talke, nicht veröffentlichte Beobachtung des hiesigen Laboratoriums.

angewandten Pikrinsäurefällung, obgleich auch hier Verluste unvermeidlich sind. Man erhält so aber in der Regel rasch filtrierende, klare und völlig eiweißfreie Flüssigkeiten.

Zur Entfernung der Nucleinstoffe habe ich mich der Fällung mit Calciumchlorid in ammoniakalischer Lösung bedient. Ich habe so schließlich stets phosphorfreie Produkte erhalten.

Das Darstellungsverfahren gestaltet sich danach wie folgt: Das zu untersuchende Material wird möglichst zerkleinert und der erhaltene Brei 2 Tage in 2%iger Kalilauge stehen gelassen. Die Menge der erforderlichen Lauge hängt von dem Material ab; für die Prostata genügt das doppelte Gewicht, für den Darm bedarf es einer größeren Menge; eventuell ist es nötig, vor Ausfällung der Eiweißstoffe mit Wasser zu verdünnen. Die erhaltene, mehr oder weniger trübe Lösung wird direkt mit Essigsäure neutralisiert, dann mit Pikrinsäure gesättigt und nochmals mit Essigsäure leicht angesäuert, der Niederschlag abfiltriert, was in der Regel leicht und rasch gelingt, dann scharf abgepreßt. Das gesamte Filtrat wird nun mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit so viel Chlorcalciumlösung versetzt, bis ein flockiger Niederschlag entsteht. Gewöhnlich genügt dazu ein Zusatz von 0,5% Calciumchlorid. Dann wird filtriert, das Filtrat mit Essigsäure neutralisiert und auf dem Wasserbad zum dicken Sirup eingedampft. Man läßt auskrystallisieren, saugt von dem ausgeschiedenen Krystallbrei ab und prüft die Flüssigkeit, indem man einen Tropfen davon in Eisessig fallen läßt, auf den Gehalt an Chondroitinsäure. Erhält man dabei sofort einen flockigen Niederschlag, so läßt man die gesamte Lösung sofort in viel Eisessig eintropfen. Ergibt die Prüfung wegen zu geringen Gehalts bloß eine Trübung, so empfiehlt es sich, den Sirup mit 2 bis 4 Volumen Alkohol zu fällen und erst den Niederschlag nach Lösen mit möglichst wenig Wasser in Eisessig einzutragen. Um Pikrinsäure und Salze zu entfernen, genügt meist dreimalige Wiederholung der Eisessigfällung. Zur Darstellung des Kalio- oder Natronsalzes wird mit dem Alkali neutralisiert und mit Alkohol ausgefällt. Macht die Abscheidung der Niederschläge durch Alkohol nach Entfernung der Acetate Schwierigkeiten, so kann durch Aufkochen nachgeholfen werden.

II.

Chondroitinschwefelsäure.

Die beschriebene Methode wurde bei der Untersuchung von eiweißreichen Organen ausgearbeitet, wo sich das Verfahren von Mörner-Kondo wegen des geringen Gehalts an Chondroitinsäure als unbefriedigend erwies. Es ergab sich aber daraus die Notwendigkeit, seine Brauchbarkeit an dem klassischen Objekt, dem Knorpel, sicherzustellen. Die Prüfung führte zu

einem sehr günstigen Resultat¹⁾. Die Analyse ergab, daß bei dieser Darstellungsweise die sonst leicht eintretende Schwefelsäureabspaltung vermieden wird. Das erhaltene blendendweiße Produkt war, was sonst kaum zu erreichen ist, in Wasser ohne Opalescenz löslich, so daß eine Bestimmung der spezifischen Drehung möglich war.

Die Analyse des Natriumchondroitinsulfats gab bei Mikroanalyse nach Pregl folgende Zahlen:

4,886 mg: 1,87 mg H₂O; 5,62 mg CO₂ = 4,28% H; 31,37% C.
 6,155 mg: 0,151 ccm N (722 mg Hg, 22°) = 2,71% N.
 6,163 mg: 0,137 ccm N (723 mg Hg, 18°) = 2,49% N.
 5,860 mg: 0,135 ccm N (733 mg Hg, 19°) = 2,61% N.
 7,600 mg: 3,320 mg BaSO₄ = 6,00% S.

Hieraus berechnet sich die Formel: C₁₄H₂₃NO₁₆SN_a.

	Berechnet	Gefunden
C . . .	31,11 %	31,37 %
H . . .	4,29 %	4,28 %
N . . .	2,60 %	2,71, 2,49, 2,61 %
S . . .	5,94 %	6,00 %

Dieser Befund entspricht der Angabe von Levene²⁾, wonach in der Chondroitinschwefelsäure des Knorpels und des Sehnenmucins das Atomverhältnis C:N:S gleich 14:1:1 ist. Die obige Formel läßt sich übrigens auch mit den älteren Analysen von C. Th. Mörner und Kura Kondo halbwegs in Einklang bringen (Kondo findet für das Natronsalz: C 32,24%, H 4,63%, N 2,48%, S 5,72%), weicht aber stark von der ursprünglichen Formel Schmiedebergs (C₁₈H₂₇NO₁₇S) ab. Bemerkenswert ist, daß sie auf eine direkte Beziehung zu dem jüngst von Hebting³⁾ dargestellten krystallinischen Abbauprodukt, dem Chondridin (C₁₉H₃₃NO₁₉) hinweist. Nach Levene und La Forge enthält die Chondroitinschwefelsäure auf ein Stickstoff ein Acetyl. Das gleiche hat in vor längerer Zeit aus-

¹⁾ Bei Verarbeitung von Knorpel — es wurde Nasensecheidewand vom Schwein benutzt — erwies sich die Fällung mit Calciumsalz als überflüssig.

²⁾ Levene und Jacobs, Journ. of experim. Med. 10, 558, 1908. — Levene und La Forge, Journ. of Biol. Chem. 15, 69 und 155, 1913.

³⁾ Hebting, diese Zeitschr. 63, 353, 1914.

geführten, noch nicht veröffentlichten Versuchen Dr. Hebling im hiesigen Laboratorium gefunden. Die obige Formel entspricht nun einer einfach acetylierten Chondridinschwefelsäure:



Levene gab dem Barytsalz der Säure aus Sehnenmucin die Formel: $C_{14}H_{19}NO_{14}SBa + H_2O$. Es muß zunächst dahingestellt bleiben, welche Bedeutung dem Plus an Wasser in meinem Präparat zukommt.

Kondo hat bereits angegeben, daß die Salze der Chondroitinschwefelsäure nach links drehen. Da meine Präparate klare Lösungen gaben, habe ich für das Natronsalz die optische Wirksamkeit bestimmt. Eine Lösung von 0,5190% gab im 2-dcm-Rohr bei 18° $\alpha_D = -0,31^\circ$, eine andere Lösung, 0,9885% enthaltend, im 1-dcm-Rohr $\alpha_D = -0,29^\circ$. Hieraus berechnet sich im Mittel (α_D) = $-29,6^\circ$.

Mit der erhaltenen, anscheinend sehr reinen Chondroitinschwefelsäure habe ich einige weitere Versuche ausgeführt.

Bekanntlich fällt sie Eiweiß und Leim in essigsaurer Lösung, doch wird die Fällung durch Anwesenheit von Neutralsalzen von einer bestimmten Konzentration ab behindert. Pons¹⁾ hat diese Verhältnisse für Eiweiß und einige Salze näher geprüft. In nachstehender Tabelle sind die Salzkonzentrationen verzeichnet, bei denen in meinen Versuchen die Fällung ausblieb.

	Eiereiweiß %	Gelatine %
NH ₄ Cl	4,50	1,30
NaCl	3,30	1,20
KCl	4,24	1,50
NaBr	6,95	2,60
MgCl ₂	6,75	2,38
CaCl ₂	3,60	1,56
Na ₂ HPO ₄	5,97	2,10
NaCO ₃ CH ₃	4,50	1,60

Natriumsulfat zeigte keine nennenswerte Behinderung der Fällung.

Ein gesetzmäßiger Einfluß der Kationen oder Anionen auf die Reaktion ist aus der Tabelle nicht zu entnehmen. Doch ist zu bemerken, daß für NaCl, KCl und annähernd auch für NaBr die Hemmungswirkung bei gleicher Molekularkonzentration einsetzt.

¹⁾ Pons, Arch. intern. de Physiol. 8, 413, 1909.

	Mol.-Gew.	Hemmende Molekularkonzentration	
		für Eiweiß	für Leim
NaCl	58,46	0,565 Normallösg.	0,205 Normallösg.
KCl	74,57	0,569	0,201
NaBr	102,92	0,675	0,253

Über das Verhalten der Chondroitinschwefelsäure bei der Orcin- und Phloroglucinprobe gehen die Angaben auseinander. Orgler und Neuberg¹⁾ vermißten die Reaktion an einem nach Schmiedeberg dargestellten Produkt, während sie S. Fränkel²⁾ an der nach Oddi dargestellten Substanz und Pons und Kondo an einem nach Mörner erhaltenem Präparat beobachteten. Mein Präparat gab keine deutliche Orcinreaktion, auch die Phloroglucinreaktion und die Naphthoresorcinprobe waren negativ.

Hingegen fiel die Furfurolréaktion positiv aus. Es genügt mit verdünnter Schwefelsäure aufzukochen, um die Anilinacetatreaktion in den Dämpfen nachzuweisen.

III.

Die Chondroitinsäuren des Darms, des Magens, der Prostata, der Blasenschleimhaut und der Schilddrüse.

Durch die Untersuchung der Chondroitinschwefelsäure war dargetan, daß die von uns angewandte Darstellungsmethode keine Abspaltung des Schwefels und anscheinend auch sonst keine Veränderung der zu isolierenden Chondroitinsäure bewirkt. Es ist danach zu hoffen, daß sich auf diesem Wege die mannigfachen Unklarheiten würden beseitigen lassen, die in der Literatur bezüglich der „Glucothionsäure“ bestehen. Ich begnüge mich, in dieser Richtung auf die von Mandel und Neuberg³⁾ vor einiger Zeit in dieser Zeitschrift gegebene Zusammenstellung zu verweisen, aus der hervorgeht, daß die bisher aus Leber, Leukocyten, Milchdrüse, Milz, Niere und Pankreas usw. isolierten Verbindungen dieses Typus weder die gleiche Zusammensetzung besitzen, noch auch eine einfache rationelle Beziehung der Bestandteile erkennen lassen. Auch ist in allen diesen Fällen der Gehalt an Schwefel geringer als in der typischen Chondroitinschwefelsäure, so daß der Ver-

¹⁾ Orgler und Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **37**, 407, 1903.

²⁾ S. Fränkel, Liebigs Ann. **351**, 344, 1906.

³⁾ Mandel und Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 143, 1907.

dacht nicht abgewiesen werden kann, daß es sich um diese Säure selbst nur in mit kohlenstoffreichen Beimengungen verunreinigtem Zustande gehandelt hat.

Immerhin geht aus diesen Beobachtungen hervor, daß Verbindungen vom Typus der Chondroitinschwefelsäure im Tierkörper recht verbreitet sind. Ich bin in der Lage, weitere Beispiele für diese Verbreitung beizubringen.

Darmschleimhaut. Von etwa 20 m Dünndarm vom Rind wurde die Schleimhaut mit dem Messer abgeschabt und in der oben beschriebenen Weise verarbeitet. Die nach der Pikrinsäurefällung erhaltene, zum Sirup eingedickte Flüssigkeit gab beim Eintröpfeln in Eisessig sofort einen reichlichen Niederschlag, so daß eine Fällung mit Alkohol überflüssig erschien. Das Natronsalz wurde durch Neutralisieren der gereinigten Säuren mit Natronlauge und Alkoholfällung als weißliches, sehr hygroskopisches Pulver erhalten, das in Wasser klar löslich war. Die Analysen nach Pregl gaben folgende Zahlen:

4,415 mg: 2,01 mg H_2O ; 4,69 mg $CO_2 = 5,09\%$ H, 28,97% C

4,087 mg: 1,95 mg H_2O ; 4,26 mg $CO_2 = 5,34\%$ H, 28,42% C

6,063 mg: 0,196 ccm N (724 mm Hg, 17°) = 3,61% N

6,130 mg: 3,585 mg $BaSO_4 = 8,03\%$ S

5,893 mg: 2,048 mg $NaSO_4 = 11,27\%$ Na.

Die Substanz war frei von Phosphor und gab die eingangs erwähnten typischen Reaktionen der Chondroitinschwefelsäure. Die Orcin-, Phloroglucin- und Naphthoresorcinprobe waren negativ; die Furfurolreaktion positiv.

Das Verhältnis C:N:S:Na ist 9,55:1,04:1:1,96.

Die Darmchondroitinsäure ist sonach eine sehr schwefelreiche Kohlenhydratverbindung, die sich aber von der typischen Chondroitinschwefelsäure durch ihren geringeren Kohlenstoffgehalt unterscheidet.

Magenschleim. López-Suárez hat aus dem Schleim des Schweinemagens nach der Methode von Kondo eine der Chondroitinschwefelsäure entsprechende Säure dargestellt, die 43,29% C, 5,47% H, 5,37% N, 4,29% S, aber noch Spuren Phosphor enthielt. Durch Spaltung konnte Chondrosin als salzsaurer Chondrosinäthylester nachgewiesen werden.

Es war nach meinem Verfahren möglich, die Substanz phosphorfrei zu erhalten. Trotz wiederholter Reinigung gab sie

jedoch stets gelblich gefärbte und etwas trübe Lösungen, so daß ich sie nicht für einheitlich ansehen möchte.

Die Analyse lieferte folgende Zahlen:

8,958 mg: 4,90 mg H_2O , 12,69 mg CO_2 = 6,12% H, 38,64% C
 4,810 mg: 0,186 ccm N (723 mm Hg, 19°) = 4,30% N
 7,907 mg: 1,35 mg $BaSO_4$ = 2,35% S.

Aus López-Suárez' Analysen ergibt sich das Verhältnis S:N:C 1:3:27, aus meinen 1:4:46. Zu irgendwelchen Schlüssen berechtigen diese Zahlen nicht. Das Produkt gab Furfurol, nicht aber deutliche Orcin-, Phloroglucin- und Naphthoresorcinprobe.

Prostata. 25 Prostataadrüsen vom Menschen wurden in beschriebener Weise verarbeitet. Die resultierende Prostatachondroitinsäure war in Wasser klar löslich und gab die typischen Reaktionen der Chondroitinschwefelsäure.

Analysen nach Pregl:

4,982 mg: 1,65 mg H_2O ; 3,815 mg CO_2 = 3,71% H; 20,88% C
 4,855 mg: 0,118 ccm N (722 mm Hg, 18°) = 2,72% N
 5,29 mg: 0,111 ccm N (735 mm Hg, 17°) = 2,40% N
 5,687 mg: 4,44 mg $BaSO_4$ = 10,72% S
 5,591 mg: 4,305 mg $BaSO_4$ = 10,57% S
 5,465 mg: 2,735 mg Na_2SO_4 = 16,24% Na.

Das Verhältnis C:N:S:Na ergibt sich danach zu 10, 48: 1,10:2:4,2.

Der außerordentlich hohe Schwefelgehalt zeigt auch hier, daß es sich nicht um eine durch organische Beimengungen verunreinigte Chondroitinschwefelsäure handelt. Bemerkenswert ist, daß in diesem Fall auf einen Stickstoff zwei Schwefel entfallen.

Die Substanz gab bei Säureeinwirkung Furfurol. Die Orcin-, Phloroglucin- und Naphthoresorcinprobe waren negativ.

Blasenschleimhaut vom Rind. Die Ausbeute an chondroitinschwefelsäureähnlicher Substanz war hier sehr gering. Doch konnte das Fällungsvermögen für Eiweiß und Leim, die Abspaltung von Schwefelsäure und das Auftreten einer intensiven Reduktionswirkung nach Säurespaltung, sowie der Mangel der Orcin-, Phloroglucin- und Naphthoresorcinprobe festgestellt werden. Der Befund läßt die Vermutung berechtigt erscheinen,

daß die „Chondroitinschwefelsäure“ des normalen Harns ganz oder zum Teil aus der Blase stammt.

Schilddrüse. Schilddrüsen vom Rind, die behufs anderweitiger Untersuchungen der Extraktion mit Alkohol, Äther und Wasser unterworfen worden waren, gaben nur eine ganz geringe Menge Substanz von den Eigenschaften der aus Blasen-schleimhaut erhaltenen.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen geht im Zusammenhalt mit den oben angeführten, namentlich mit Levenes Befunden hervor, daß den Verbindungen vom Typus der Chondroitinschwefelsäure im Tierkörper eine sehr große Verbreitung zukommt. Sowohl in Binde-substanzen wie auch in epithelialen Geweben und ihren Sekreten sind sie nachweisbar. In den meisten, vielleicht in allen Fällen finden sie sich an Proteinstoffe gebunden vor. Die früher naheliegende Vermutung, daß es sich in den verschiedenen Organen um typische Chondroitinschwefelsäure, nur in anderer Bindung, handelt, kann aber nicht aufrechterhalten werden. Die Zusammensetzung der aus Darmmucosa und aus Prostata erhaltenen Produkte mit ihrem hohen Schwefelgehalt spricht entschieden dagegen. Doch weist der Stickstoffgehalt überall auf Anwesenheit eines stickstoffhaltigen Kohlenhydrats, die Abspaltbarkeit von Furfurol auf die einer Glucuronsäure hin. Der Nachweis von Chondrosin durch López-Suárez spricht dafür, daß wenigstens im Magenschleim die beiden Kohlenhydrat-Komponenten in ähnlicher Anordnung vorhanden sind, wie in der typischen Chondroitinschwefelsäure. Inwieweit das auch sonst zutrifft, sollen weitere Untersuchungen lehren.

Über die Wirkung von Organextrakten auf das Herz.

I. Mitteilung.

Von

E. Bürgi und C. F. v. Traczewski.

(Aus dem Pharmakologischen und Medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 17. Juni 1914.)

Mit 11 Figuren im Text.

Die Absicht, die Wirkung von Arzneikombinationen auf Herz und Gefäße zu untersuchen, führte uns ganz von selbst zu der Prüfung des Einflusses von Drüsenextrakten auf das gleiche Organ. Bürgi hatte zunächst die Kombination Digitalis-Adrenalin und Digitalis-Thyreoidea in ihrer pharmakologischen Bedeutung durch Schapiro¹⁾ untersuchen lassen. Die Ergebnisse werden demnächst mitgeteilt. Nach Verwendung verschiedener anderer Methoden wurde vorderhand ausschließlich mit dem Engelmanschen Suspensionsverfahren gearbeitet. Dabei zeigte sich eine durchaus charakteristische Wirkung der Schilddrüse sowie des Adrenalins auf das Kardiogramm. Das gab uns die Veranlassung, auch den Einfluß anderer sogenannter Drüsen mit innerer Sekretion auf das Herz zu studieren. Wir untersuchten die Wirkung sowohl von einzelnen Drüsenextrakten wie auch von Kombinationen, und geben hier die gewonnenen Resultate wieder. Wir haben vorläufig mit der Engelmanschen Suspensionsmethode gearbeitet, weil sie den ganzen Kreislauf intakt läßt und ein relativ bequemes Experimentieren gestattet. Wir sind uns der Fehlerquellen dieses Verfahrens

¹⁾ Unveröffentlicht.

durchaus bewußt und sind dabei, unsere Ergebnisse noch mit anderen Methoden nachzuprüfen. Da aber unsere Resultate ohnehin sehr charakteristische sind, glauben wir, sie schon jetzt zu weiteren Schlüssen verwenden zu dürfen. Experimentiert wurde ausschließlich an Fröschen, und zwar konnten wir nur *Rana esculenta* verwenden. Die Injektion wurde in Urethannarkose gewöhnlich in den oberen Schenkellymphsack gemacht. Ursprünglich benutzten wir *Rana esculenta* nur, weil *Rana temporaria* nicht erhältlich war. Wir sahen dann aber, daß *Rana esculenta* sich für unsere Versuchszwecke beinahe besser eignete als die andere Froschart. Gerade ihre weniger große Empfindlichkeit bietet für langdauernde Versuche entschiedene Vorteile. Am besten wird man das vielleicht aus den Mitteilungen von Schapiro ersehen, aus denen hervorgeht, daß Digitalis die Herzfunktionen von *Rana esculenta* in einer durchaus charakteristischen Weise verändert. Es ist wohl zweckmäßig zur besseren Veranschaulichung unserer Resultate, hier

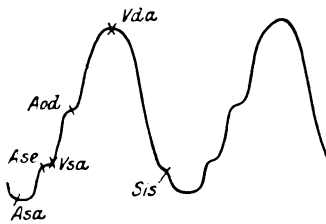


Fig. 1.

zunächst das mit dem Engelmanschen Verfahren gewonnene normale Kardiogramm (Fig. 1) schematisch wiederzugeben, obwohl es im allgemeinen bekannt sein dürfte.

Die mit diesem Verfahren erhaltenen Resultate wurden namentlich durch die direkte Be-

obachtung des Herzens, die nach mancher Richtung das Beste leistet, ergänzt. Die genauere Schilderung unserer Versuchsanordnung folgt in der Arbeit von Schapiro.

Wirkung der Thyreoidea.

Als Präparate benutzten wir zum Teil die von *Borroughs* und *Welcome* in den Handel gebrachte *Thyreoidea sicca*, zum Teil das Thyreoglandol der Firma *Hoffmann-La Roche*. Das erste Präparat wurde ganz fein zerrieben und als Suspension in Ringersche Lösung eingespritzt. Das Thyreoglandol *Hoffmann-La Roche* ist eine wasserklare Flüssigkeit, die kein Eiweiß enthält. (Man erhält nur mit Tannin- sowie mit Pikrin-

säure einen Niederschlag, alle anderen üblichen Eiweißreaktionen sind negativ.) Das erste, was man nach der Injektion von Thyreoidea bemerkt, ist ein leichtes Heraufrücken des Fußes der Kurve, das den erhöhten Kontraktionszustand angibt. Dabei werden die Ausschläge im ganzen vorübergehend kaum größer, recht bald aber entschieden kleiner, und die Pulsfrequenz nimmt ab. Besonders charakteristisch ist jedoch das Herunterrücken der Erhebung, die nach Engelmann den Eintritt der Blutwelle in die Aorta bezeichnet. Diese Zacke wandert aber nicht nur herunter, sondern sie verstreicht auch allmählich. Die spitze Ausziehung des Fußes, die zum Teil auf Schleuderung beruht, wird allmählich kleiner und schließlich verbreitert sich der Fuß einer jeden Kurve etwas. Während er früher in eine Linie ausgelaufen war, zeigt er jetzt eine Abstumpfung einer leicht abgebrochenen Messerspitze ähnlich. Das erfolgt, weil der Gipfel des ersten anakroten Anstiegs, der das Ende der Vorhofssystole angibt, immer mehr nach dem Fußpunkt der Kurve heruntersteigt. Beiden Erscheinungen begegneten wir auch (Arbeit Schapiro) bei der Digitaliswirkung auf das Froschherz, bis zu dem Moment, wo die erste Unregelmäßigkeit auftritt, die sich in einer Alternation des Herzschlages kundgibt. Irregularitäten der Herzfunktion beobachteten wir bei den von uns gewählten Thyreoeadosen nicht. Die Thyreoidea sicca wirkte bedeutend stärker als das Thyreoglandol. Doch müssen für einen eventuellen therapeutischen Vergleich natürlich auch die Dosen richtig eingeschätzt werden können, was uns noch nicht möglich war. Während der Wirkung der Thyreoidea sah das Herz hellrot aus, enthielt also wohl vorwiegend arterielles Blut. Die Pigmentierung der Haut war dunkel, freilich nicht so stark wie bei Verwendung des Pituglandols. Das Blut war dünnflüssig und koagulierte schwer. Dementsprechend war auch die Watte an den Wundrändern und Einstichstellen mit Blut durchtränkt. Die Tiere verloren offenbar ziemlich viel Blut, so daß am Ende des Versuches das Herz oft stark geschrumpft, farblos und beinahe blutleer war. Bei Verwendung höherer Dosen des B.-W.-Extraktes trat mehrmals typischer Exophthalmus mit vorübergehender Miosis auf.

Die Frösche erholten sich unter der Schilddrüsenwirkung auffallend rasch von der Urethannarkose.

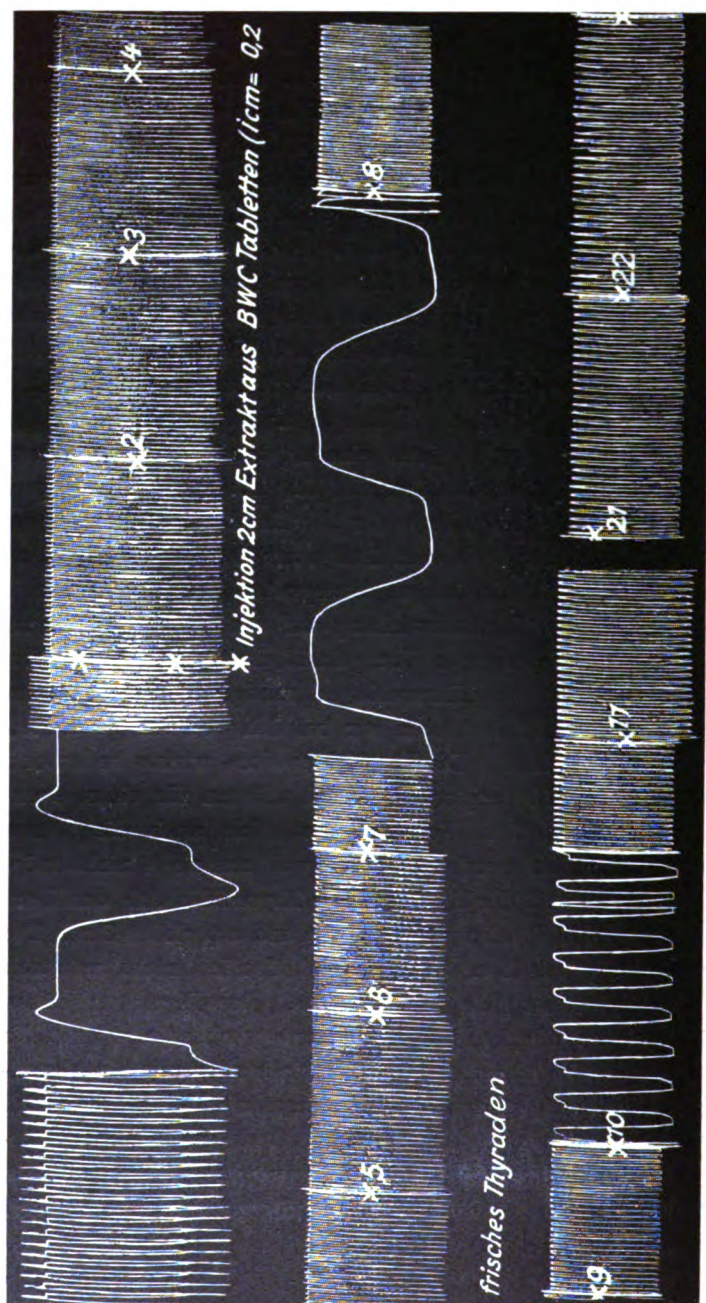


Fig. 2. Thyroideawirkung. Wiedergegeben wird, wie in allen diesen Bildern und Kurvenausschnitten, die charakteristische Veränderung.

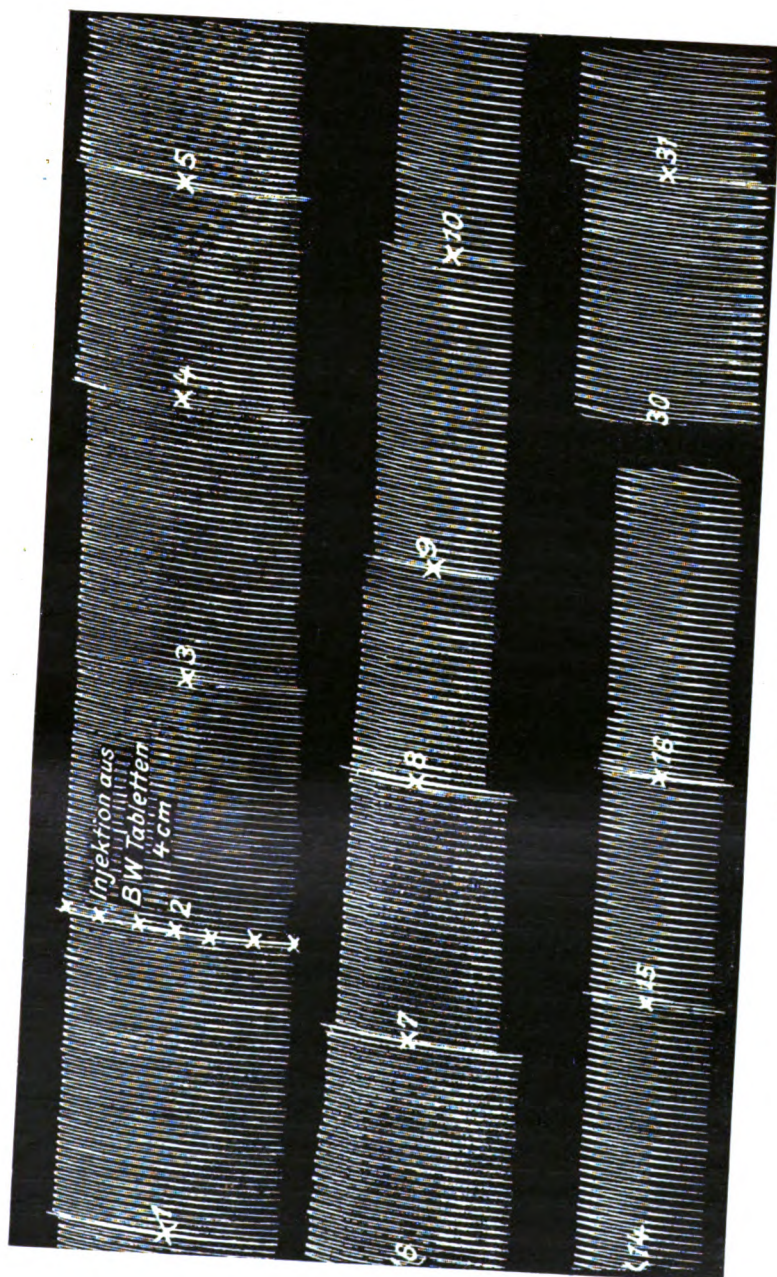


Fig. 3. Thyreoideawirkung.

Wirkung der Hypophysis.

Bei diesen Versuchen verwendeten wir ausschließlich das Pituglandol Hoffmann-La Roche, dessen volle Wirksamkeit durch zahlreiche Untersuchungen festgestellt ist. Das Pituglandol stellt eine wasserhelle, klare Flüssigkeit dar, die keine Eiweißreaktion gibt. Wir entnahmen es den fertigen Ampullen und achteten darauf, keine alt gewordenen Flüssigkeiten, die sich bekanntlich bräunen und dann an Wirkung verlieren, zu verwenden.

Das unter der Pituglandolwirkung stehende Herz bläht sich auf, die Farbe des Organs ist viel dunkler als bei der Thyreoideawirkung, aber doch noch bedeutend heller wie bei der Verwendung von Adrenalin. Die verstärkte Aktion einzelner Herzabschnitte läßt sich auch ohne Apparatur sehr deutlich beobachten. Wir gaben im allgemeinen Dosen von 1 bis 4 ccm, verteilt auf die ganze Versuchsdauer. 1 ccm Pituglandol entspricht 0,1 g frischer Hypophyse. An der Kurve lassen sich folgende Veränderungen konstatieren: Bei nicht zu großen Dosen und bei etwas schwächeren Tieren wird zunächst die erste Erhebung, die wir Atrio-Ventrikularzacke nennen können, ausgeglichen. Dann tritt bei einzelnen Herzschlägen eine außerordentlich vermehrte Diastole des Vorhofes auf, die von einer verkleinerten Kammersystole gefolgt ist. Diese auf den Kurven deutlich ausgesprochene Veränderung erfolgt unregelmäßig, etwa alle 3 bis 5 Herzschläge. Die Atrio-Ventrikularerhebung wird dann immer geringer. Die Verstärkung der Vorhofdiastole setzt eine längere Zeit aus und wiederholt sich dann wieder, etwa alle 6 bis 7 Pulsationen. Die während der Tätigkeit des Vorhofs beobachtete Schleuderung, von der wir schon bei der Besprechung der Thyreoideawirkung geredet haben, ist gleich nach der vermehrten Vorhofdiastole am kleinsten und wächst dann von Puls zu Puls, bis wieder die geschilderte Vermehrung der Vorhofdiastole einsetzt. Manchmal fehlt die Diastolewirkung, dagegen bestehen die genannten Eigentümlichkeiten der Schleuderung fort. Die erwähnte, gewöhnlich vorhandene Veränderung der Vorhofdiastole tritt auf, verschwindet, kehrt wieder zurück und wiederholt sich dann in immer kürzeren Intervallen, so daß sie bei jedem zweiten Pulse auftritt. Dann verschwindet

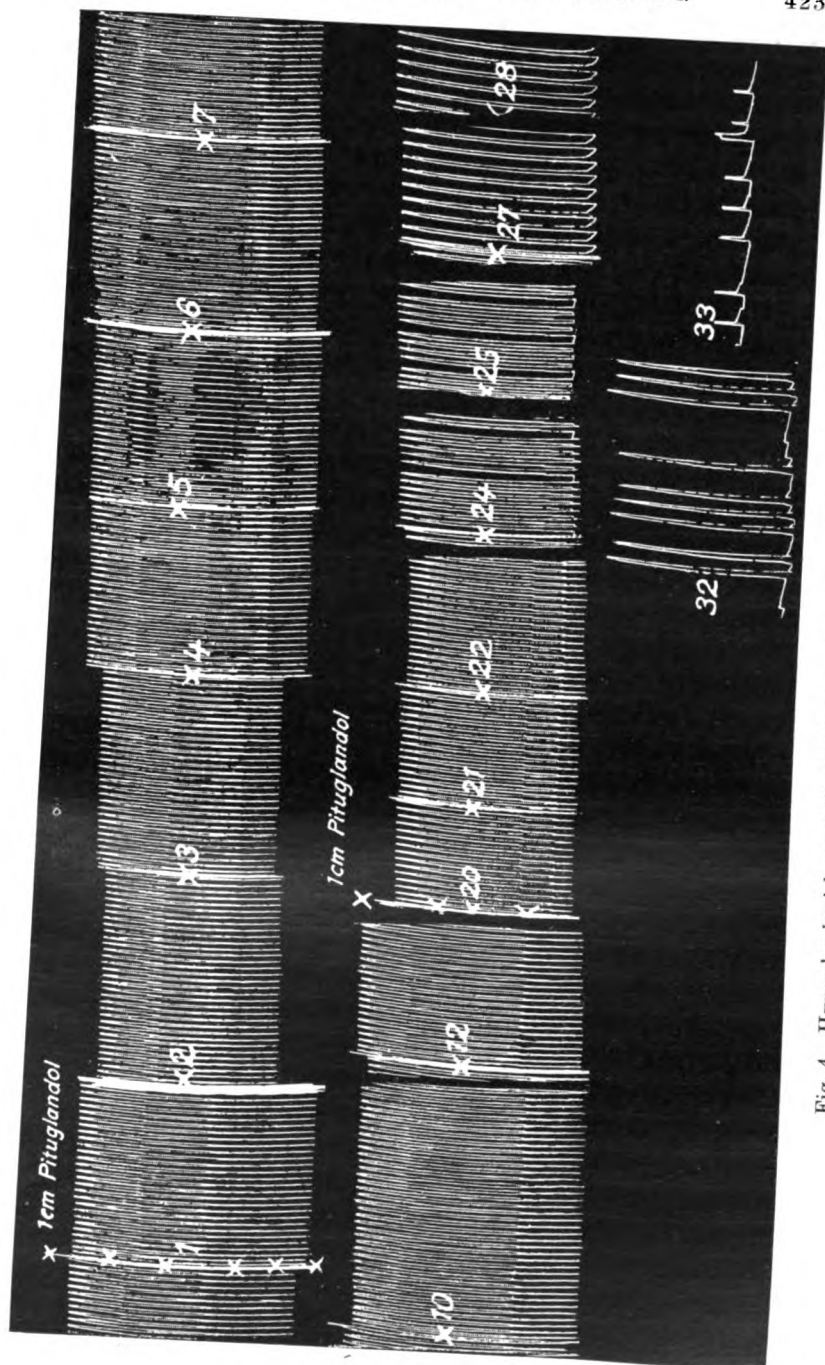


Fig. 4. Hypophysiswirkung (Pituglandol), siehe namentlich 24, 25, 32 und 33.

die Schleuderung bei der Vorhoftätigkeit ganz, so daß man den Eindruck bekommt, die Kammersystole werde sogleich wieder von einer neuen Kammersystole gefolgt und die Vorhoftätigkeit falle aus. Man beobachtet dann immer häufiger eine Tätigkeit der Kammern mit Ausfall der Vorhoffunktion, die von einer Herzphase mit übermäßiger Vorhoftätigkeit abgelöst wird. Bei einzelnen Pulsen systolisiert der Vorhof zweimal, ohne daß eine Kammersystole auftritt. Die starke Vorhofaktion wird allmählich immer häufiger, dabei bildet sich auf dem absteigenden Schenkel eine Venen-Sinuserhebung aus. Der Puls wird langsamer und langsamer, charakterisiert durch die lange Diastole mit sehr großer, steiler Kammersystole. Die Atrio-Ventrikularsystole ist beinahe verstrichen. Die Kammersystolen werden immer seltener, die isolierte Systole der Vorhöfe immer häufiger, schließlich zeigt das Kardiogramm nur noch eine schwach angedeutete, aber noch frequente Tätigkeit der Vorhöfe, die sich auch durch direkte Inspektion des Tieres feststellen läßt, und es tritt der Tod ein.

Thyreoidea-Hypophysis-Kombinationen.

In einigen Fällen gaben wir großen, über 100 g schweren Fröschen je 2 ccm Thyreoidea und Pituglandol. Die Versuchsanordnungen waren die gleichen wie in den früheren Experimenten. Kurze Zeit nach der Einspritzung bläht sich das Herz förmlich auf, zuerst der Vorhof dann der Ventrikel. Man hat den Eindruck, als ob es dem Herzen schwer möglich wäre, sich seines Inhaltes zu entledigen. Offenbar nimmt das Organ viel zu viel Blut auf und kann die Menge kaum noch bewältigen. Die Farbe des Herzens ist dunkelbraunrot. Das Herz ist förmlich voll zum Platzen. Die Ausschläge auf der Kurve sind sehr regelmäßig und kräftig. Die untere Schleuderzacke kommt nicht so recht zum Ausdruck, da der aufsteigende Schenkel sogleich stark zurücktritt. Der Puls wird langsamer. Die Atrio-Ventrikularzacke steht erst zwischen dem unteren und mittleren Drittel des Anstieges und prägt sich allmählich durch Bildung eines eigentlichen Sattels stärker aus. Die Aorten-dehnungszacke verstreicht, indem sie sich der unteren Zacke nähert. Nachher kommt sie wieder zum Vorschein, bleibt aber immer in der Nähe der Atrio-Ventrikularzacke. Die Haupt-

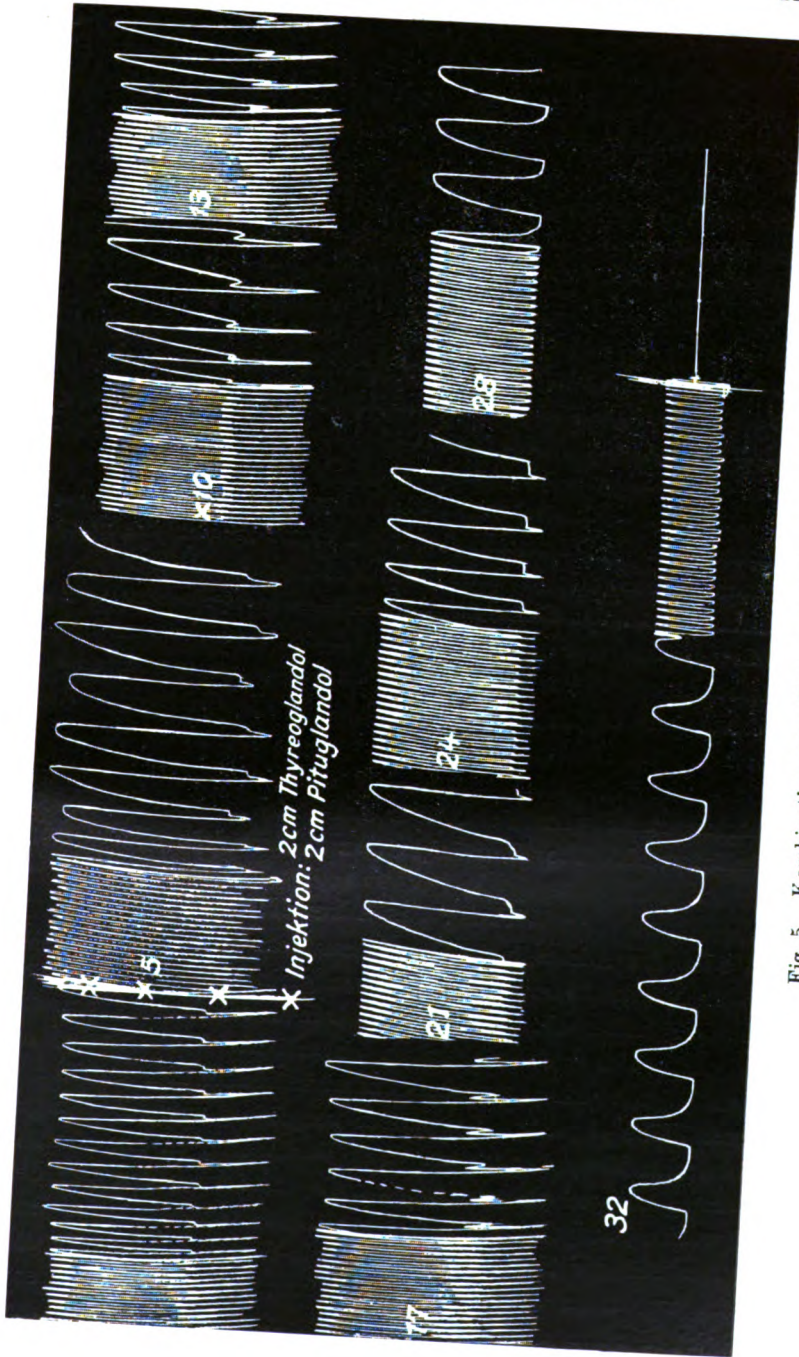


Fig. 5. Kombination vom Thyreoglandol + Pituglandol.

charakteristika der Kurve bestehen erstens in der starken Erhebung über das ursprüngliche Niveau, wobei der Fußpunkt nicht etwa heraufrückt, zweitens in der außerordentlichen Steilheit des Abfalls.

Der Vorhofanteil (vom Fußpunkt bis zur Atrio-Ventrikularzacke) wird allmählich immer niedriger. Die Einsattelung tritt nicht mehr auf. Der Anstieg bis zur Atrio-Ventrikularzacke flacht sich immer mehr ab. Der zweite Teil des Anstiegs wird wie der erste immer schräger, während der Abfall andauernd geradezu senkrecht erfolgt. Von der Venensinuszacke ist scheinbar nichts zu sehen. Die Aortendehnungszacke ist so gut wie verstrichen. Schließlich wird die Amplitude der Kurve bedeutend kleiner, der Abstieg verläuft immer langsamer und geht mit einer Biegung in den ansteigenden Teil über, der dann scharf in die Höhe schnellte. Die obere Spitze fängt an sich abzurunden. Die Ausschläge werden etwas kleiner, die Zacken verschwinden. Hie und da setzt das Herz aus. Der Vorhof flimmert, und das Herz steht schließlich in Systole still. Die Frösche leben unter der Wirkung dieser Kombination 3 mal 24 Stunden. Wenn wir die Ergebnisse zusammenfassen, so können wir sagen: Charakteristisch ist die Größe der Ausschläge. Die Kammertätigkeit überwiegt die des Vorhofs. Die Atrio-Ventrikularzacke akzentuiert sich stark, die Aortendehnungszacke verstreicht. Der Auf- und Abstieg der Kurve verläuft steil. Die Herztätigkeit und -elastizität scheint vermehrt.

Wirkung des Adrenalins.

Da das Adrenalin im Organismus sehr rasch zerstört wird, ist auch seine Herzwirkung nur von geringer Dauer. Als ihre Hauptcharakteristika beobachteten wir in unseren Kardiogrammen einerseits eine sich sehr rasch einstellende Verstärkung der Herztätigkeit, die zu steil auf- und absteigenden Kurven führte, deren Höhe der Norm gegenüber vergrößert war. Bei länger dauernden Versuchen traten dann Veränderungen der Kardiogramme zutage, die geradezu das Gegenstück zu den von der Thyreoidea ausgehenden Einflüssen darstellten. Auf dem anakroten Teil der Kurve steigt die Atrio-Ventrikularzacke in die Höhe, vor allem aber die Aortendehnungszacke. Die letztere scheint ziemlich stark eingesattelt. Sie rückt allmählich auf die

Spitze und vernichtet sie damit. Es entsteht ein Gipfel mit doppelter Spitze, und schließlich wandert die Aortendehnungszacke sogar auf den katakroten Schenkel herüber. Man kann also sagen, bei der Adrenalinwirkung wandern die Zacken in der Richtung des Schreibhebels resp. mit dem Schreibhebel, bei der Thyreoideawirkung umgekehrt. Hie und da erhielten wir auch bei einem nicht vorbehandelten Froschherzen die Aortendehnungszacke auf dem absteigenden Schenkel, dies hauptsächlich bei Tieren, die sich in der oder kurz nach der Laichzeit befanden.

Unter dem Einfluß der Thyreoidea rückte dann die Aortendehnungszacke sogleich wieder auf ihren normalen Platz auf dem aufsteigenden Kurvenschenkel. Wir nahmen an, daß in diesen Fällen eine besonders starke physiologische Adrenalinproduktion eingetreten war. Für das Froschherz ist also das Adrenalin ein vollkommener Antagonist der Schilddrüsensubstanz. Nur ist die Wirkung aus bekannten Gründen nicht anhaltend.

An dieser Stelle möchten wir noch die folgende Beobachtung zum Ausdruck bringen: Bei Herzen, die sich unter Adrenalinwirkung befanden, bemerkten wir immer eine sehr dunkle,

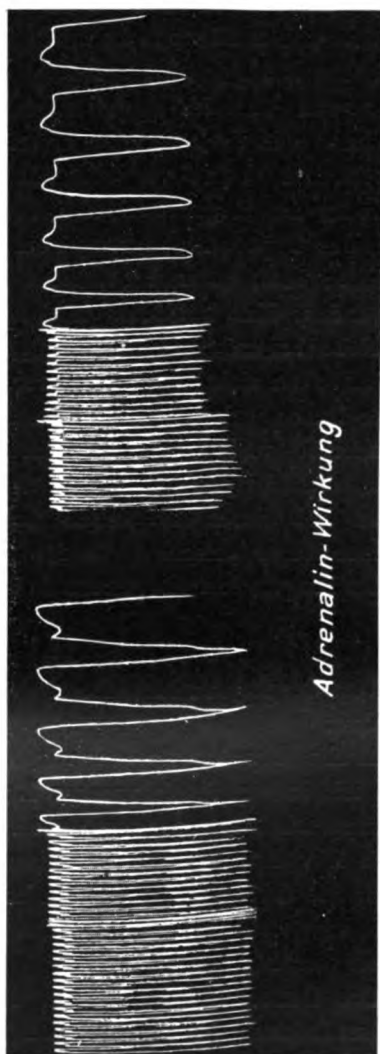


Fig. 6. Adrenalinwirkung, siehe namentlich die Aortendehnungszacken.

beinahe braunschwarze Färbung des Herzens, eine vermehrte Füllung hauptsächlich des Vorhofes und eine ziemlich rasche Erlahmung der Herzmuskeltätigkeit. Der Stillstand des Herzens erfolgt immer in schlaffer Diastole. Da das Froschherz trotz seines einfachen Baues nicht nur Mischblut sondern auch dunkles und helles Blut, jedes für sich gesondert, befördert, und zwar dunkles von der Atrio-Ventrikularzacke bis zur Aortendehnungszacke und von da an helles, arterielles, so dürfen wir aus der beobachteten Veränderung der Herzfarbe sowie aus der Lage der Zacke im Engelmannschen Kardiogramm annehmen, daß unter der Thyreoideawirkung vom Herzen aus hauptsächlich arterielles Blut, unter der Adrenalinwirkung dagegen vornehmlich venöses Blut befördert wird.

Nebenbei möchten wir noch angeben, daß das an anderen Schnittflächen sichtbare Blut unter der Adrenalinwirkung eine dunkle Farbe zeigte, verhältnismäßig spärlich war und rasch koagulierte, unter der Thyreoideawirkung dagegen sich als hellrot, dickflüssig, reicher und schwer gerinnend erwies. Wir können bei dieser Gelegenheit wohl an die Kottmannschen Untersuchungen erinnern, die den Einfluß der Thyreoidea auf die Blutkoagulation festgestellt haben.

Thymus.

Von der Thymusdrüse bereiteten wir uns zwei verschiedene Extrakte:

1. Ein Extrakt „A“, das wir durch Ausziehen der Thymusdrüse mit kalter physiologischer Kochsalzlösung erhielten. Dabei entsprach 1 ccm 2 g der Drüse.

2. Ein Extrakt „B“, das eiweißfrei war, nach dem Verfahren, das Osten für die Extraktion des Hodens verwendet hatte, hergestellt wurde, und das den Vorzug hatte, durch Kochen sterilisierbar zu sein.

Das Verfahren von Osten, das wir hier nicht genauer schildern können, ist ziemlich komplizierter Natur. Der Totalauszug A wirkte etwas stärker. Unter diesem Einfluß sank die kardiographische Kurve in ihrem Fußpunkt bis unter das ursprüngliche Niveau. Dabei war die Amplitude nicht vermindert. Diese Eigentümlichkeit, den Fußpunkt zum Sinken zu bringen, zeigte das Ostensche Präparat nicht, dagegen war

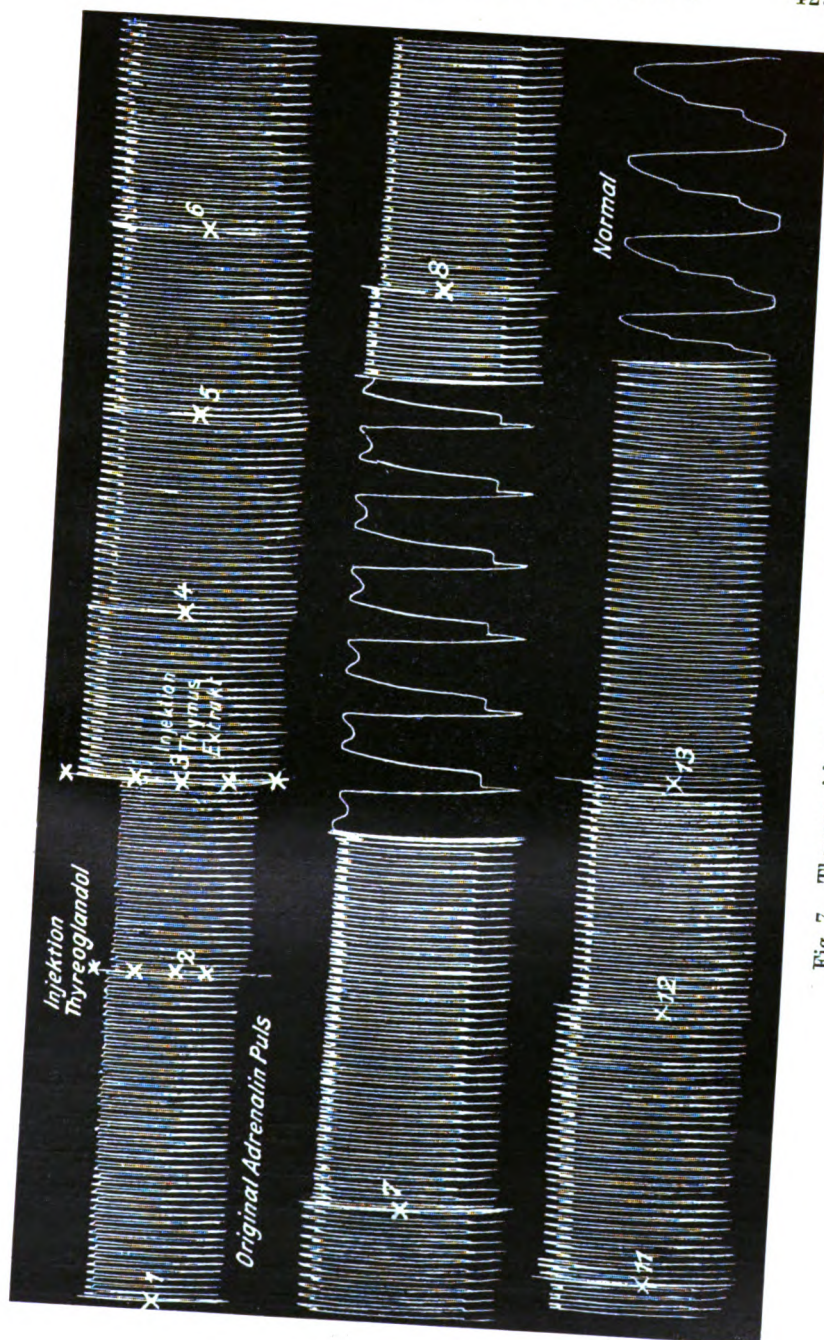


Fig. 7. Thymuswirkung, siehe namentlich 7 und 8.

auch unter seinem Einfluß eine Vergrößerung der Amplitude zu erkennen. Sie bildet überhaupt das eigentlich Charakteristische der Thymuswirkung, das auch bei Kombination dieser Drüsensubstanz mit Thyreoglandol, Pituglandol, Neo-Sequarin, Testiglandol usw. zu beobachten war. Die Thymus akzentuierte dabei die eigentümlichen Wirkungen der anderen Extrakte. Gleichzeitig wurden offenbar im Zusammenhang mit der Vermehrung der Amplitude die Ausschläge etwas verlangsamt. Wir halten es für möglich, daß die bei der Verwendung des Totalauszuges „A“ beobachtete starke Senkung des Kurvenfußpunktes auf die Anwesenheit von Cholin zurückzuführen ist¹⁾.

Als Nebenwirkung sahen wir bei Verwendung großer Dosen beim Frosch eine ungewöhnlich helle Hautfärbung auftreten. Öfters wurde ausgesprochene Miosis beobachtet. Wir heben noch einmal hervor, daß das Pituglandol im Gegensatz zu dem Thymusextrakt eine sehr dunkle Hautfärbung erzeugt.

Cholin.

Die Wirkung des Cholins beruht in einer Vermehrung der Amplitude mit Senkung des Fußpunktes unter das ursprüngliche Niveau. Wir verwendeten die Kahlbaumsche 25 %ige Cholinlösung, die wir mit Ringer-Lösung verdünnt hatten. Immerhin konnten wir die stark lokale Ätzwirkung nicht ganz verhindern.

Die Amplitudenvermehrung ist bei Gebrauch ganz reiner Cholinlösungen immer vorhanden, dagegen fehlt häufig die Senkung des Kurvenfußpunktes.

Hodenextrakt.

Wir experimentierten zunächst ausschließlich mit einem nach einem besonderen Verfahren hergestellten eiweißfreien Extrakt aus Stierhoden. Nebenhoden, Häute und Gefäßbündel werden nicht zu der Extraktion verwendet. Das Präparat wird neuerdings von der Firma Richter & Co., (Kreuzlingen, London

¹⁾ Reines Cholin bewirkt allerdings in unseren Versuchen das Gegenteil, die angegebene Senkung erfolgt nur, wenn man es in Kombination mit anderen Organsubstanzen verwendet.

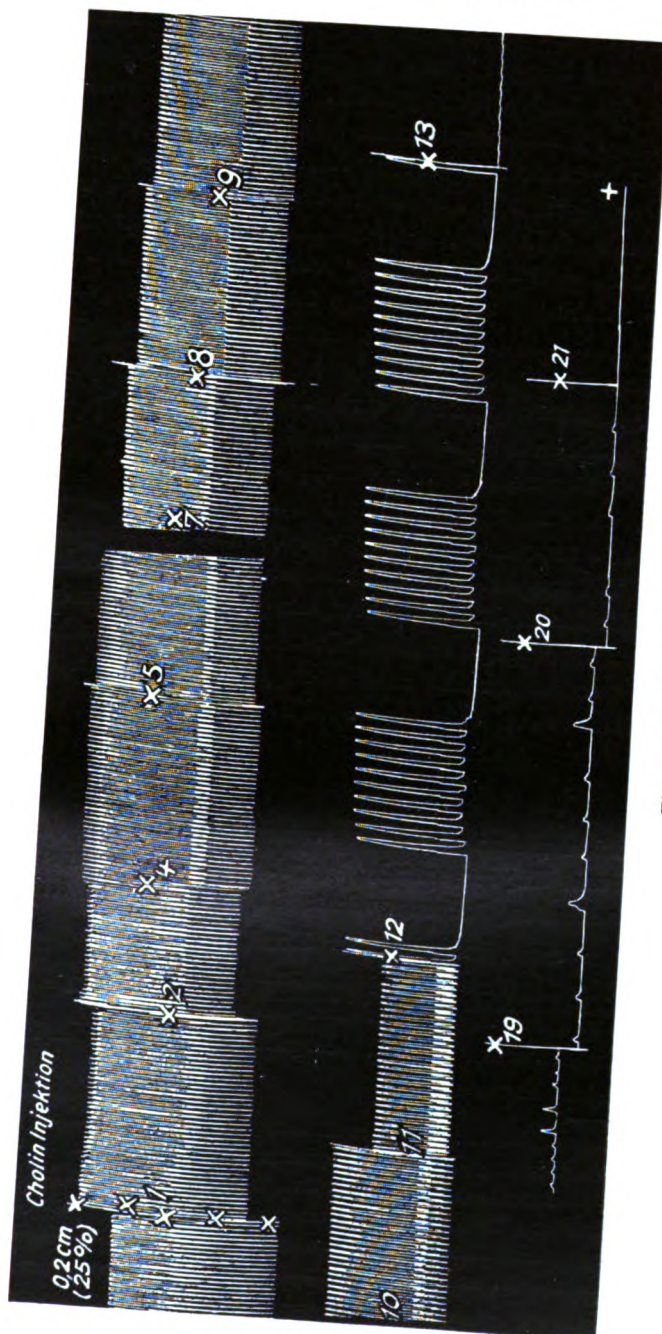


Fig. 8. Cholinwirkung.

und Konstanz) als sogenanntes Neo-Sequarin¹⁾ in den Handel gebracht. Als Hauptwirkung zeigte sich eine scharfe Akzentuierung der Aortendehnungszacke. Diese wird breiter und satter. Die Atrioventrikularzacke wandert nach oben bis in die Nähe der Aortendehnungszacke, die, wie erwähnt, stark ausgeprägt und gesattelt an der normalen Stelle bleibt. Nach einer Stunde sinkt die Atrioventrikularzacke wieder hinunter. Irgendwelche schädliche Wirkung war nicht zu bemerken, im Gegenteil beobachteten wir häufig, daß eine ursprüngliche Unregelmäßigkeit des Herzschlages unter der Wirkung der Substanz verschwand.

Wir haben neuerdings auch das Testiglandol Roche mit der gleichen Methode untersucht und ähnliche Resultate, über die später noch berichtet wird, erzielt. Wir möchten hier hervorheben, daß wir damit wohl den ersten sicheren Nachweis einer hormonalen Wirkung der Testikel geliefert haben²⁾. Der Effekt kann als ein tonisierender bezeichnet werden. In Fig. 10 (Yohimben-Kurve) sehen wir, wie das Yohimbin der Testiswirkung entgegenarbeitet. Die Aortendehnungszacke sinkt, die Atrioventricularzacke wird stark gesattelt, das weitere ist aus der Kurve zu entnehmen. Wir legen sie bei, um den eigentümlichen Mechanismus dieser Zackenwanderung zu veranschaulichen.

Kombinationswirkung von Testormon, Thyreoglandol, Pituglandol und Thymusextrakt, gegeben im Verhältnisse des entsprechenden Drüsengewichts im menschlichen Körper.

Unter der Wirkung dieser Kombination ändert sich das normale Kardiogramm prinzipiell durchaus nicht, dagegen werden die Gesamtausschläge größer und die einzelnen Teile vielleicht etwas akzentuierter. Eine Wiedergabe der gewonnenen Kurven scheint nicht notwendig.

¹⁾ Diesen Hodenextrakt bezeichnete ich in einer früheren Publikation (Die Wirkung der Arzneimische. Med. Klinik Nr. 14 und 15, 1914, s. a. Rektoratsrede, Buchhdlg. Drechsel, Bern 1914) als Testormon, da mir die Firma Richter diesen Namen angegeben hatte. Sie hat das Wort inzwischen fallen gelassen und durch Neo-Sequarin ersetzt.

²⁾ Die mächtigen innersekretorischen Wirkungen der Geschlechtsdrüsen auf das Wachstum usw. möchten wir nicht als hormonal bezeichnen.

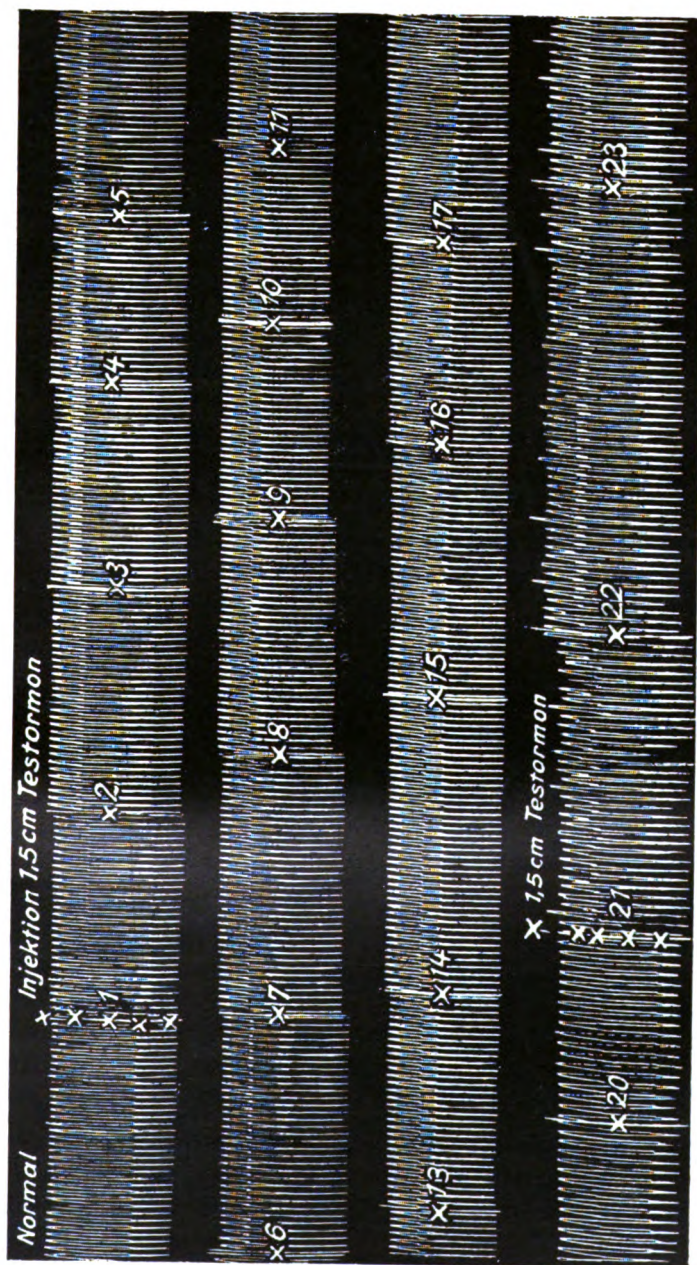


Fig. 9. Wirkung von Hodenextrakt.
(An Stelle des Wortes „Testormon“ ist zu setzen Neo-Sequrin, ebenso auf den folgenden Kurven.

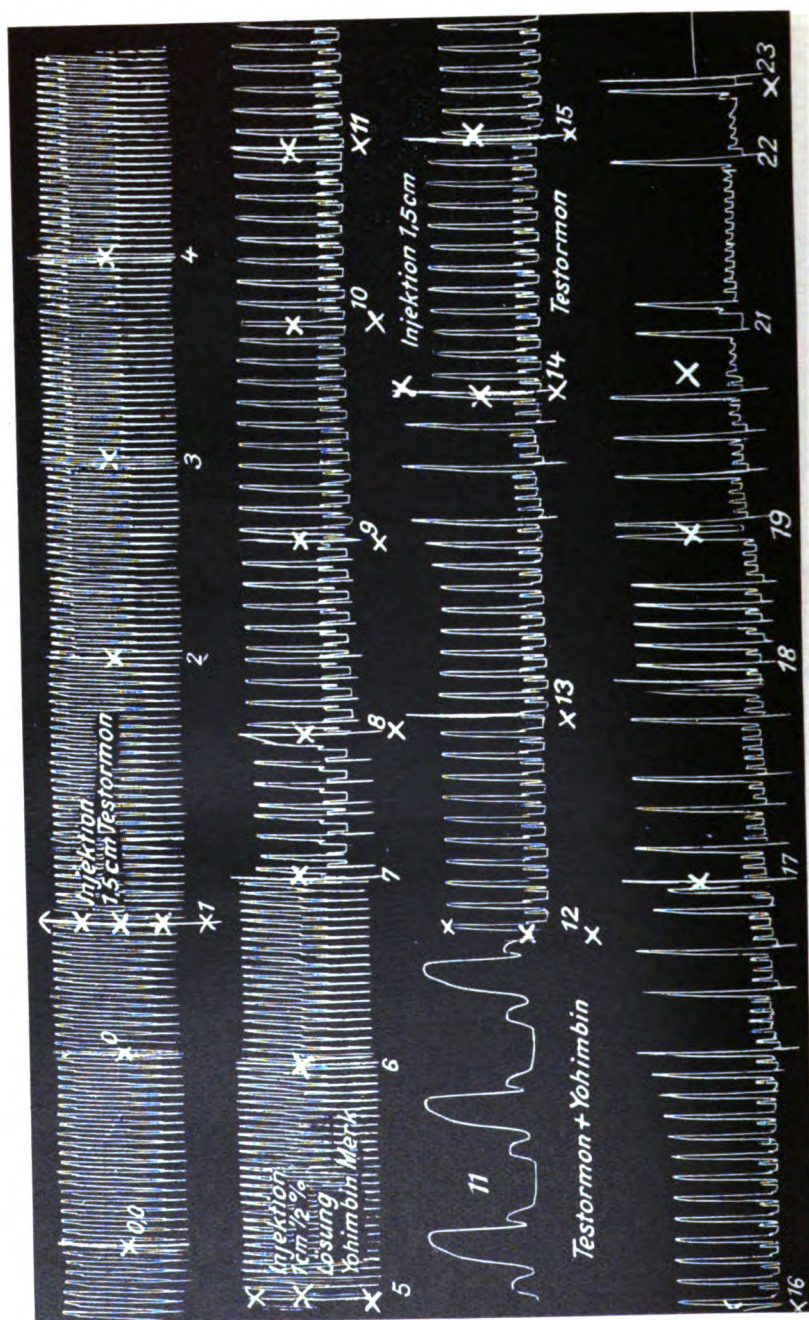


Fig. 10. Wirkung von Hodenextrakt und von Yohimbin.

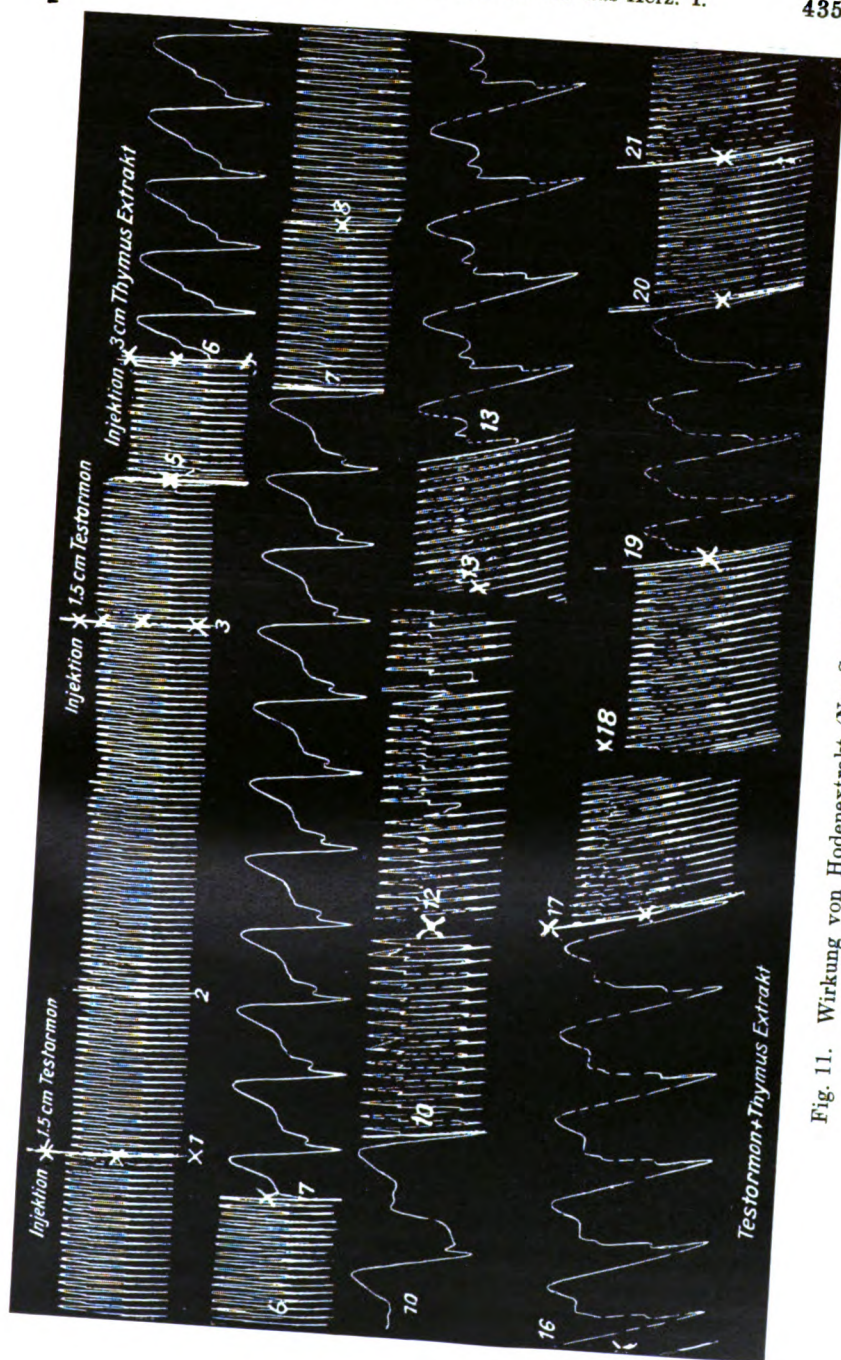


Fig. 11. Wirkung von Hodenextrakt (Neo-Sequarin) und von Thymusextrakt.

Unsere Untersuchungen zeigten, daß jede Drüse mit innerer Sekretion eine ganz bestimmte, nur ihr allein zukommende Wirkung auf das Froschherz ausübt. Wir unterlassen es vorläufig, unsere Ergebnisse mit den Resultaten schon veröffentlichter Untersuchungen über die Wirkung von Organextrakten auf das isolierte Froschherz zu vergleichen, da wir von einer prinzipiell verschiedenen Methode ausgegangen sind. Trotz der Nachteile, die das Engelmanssche Suspensionsverfahren hat, stehen doch unsere Resultate den normalen Verhältnissen bedeutend näher als die mit anderen Methoden gewonnenen. Wir können uns dem Eindruck nicht verschließen, daß die Drüsen mit innerer Sekretion durch Vermittlung gewisser Hormone die physiologische Herztätigkeit spezifisch beeinflussen. Jede Blutdrüse wirkt in ihrer eigenen Weise. Besonders maßgebend scheint uns aber, daß die normale Kombination sämtlicher Drüsen, die in den ungefähr physiologischen Gewichtsverhältnissen verwendet wurden, die Herzfunktion nur im Sinne eines allgemeinen Anregungsmittels beeinflußt, nicht aber grundsätzlich ändert.

Ergänzung zum Artikel über „Die Biochemie des Vagusproblems“.

II. Mitteilung.

(Diese Zeitschr. 63, 140, 1914.)

Von

John C. Hemmeter, M. D.

(Aus dem Physiologischen Laboratorium der University of Maryland,
Baltimore, Md.)

(Eingegangen am 24. Juni 1914.)

Diese Mitteilung hat den Zweck, zu untersuchen, ob der Herzstillstand, der nach Vagusreizung eintritt, von irgendeiner im Myokardium freiwerdenden chemischen Substanz verursacht wird. Man hat z. B. behauptet, daß Herzverlangsamung und Herzstillstand nach Vagusreizung durch Chlorkalium (KCl) bedingt seien, das unter dem Einfluß der Vagusreizung im Myokardium frei würde.

Wenn dem so wäre, so müßte das Blut eines inhibierten Herzens auch ein anderes (zweites) Herz verlangsamen können, wenn es in dieses hineingeleitet wird. Zur Prüfung dieser Fragestellung war eine besondere Technik nötig, die in der Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik 2, Nr. 8, S. 372 beschrieben worden ist.

Es existiert bei den Selachiern eine besondere und höchst interessante Verteilung der Coronargefäße, die bei der Deutung von physiologischen Experimenten die genaueste Berücksichtigung verlangt. Bei diesen Fischen gehen die Coronararterien nicht direkt vom Ventrikel ab; denn das Blut im Ventrikel ist venöses Blut und arm an Sauerstoff, es eignet sich daher nicht zur Ernährung des Herzmuskels. Um diesen mit dem unentbehrlichen Sauerstoff zu versorgen, muß das Kammerblut vorerst durch die Kiemen getrieben werden, danach kommen

kleine Arterien als Coronargefäße (Coronarzirkulation) bei den Selachiern zum Ventrikel zurück. Die spezielle anatomische Einteilung der Coronargefäße ist bei den Selachiern sehr verschieden. Das muß berücksichtigt werden, wenn man beabsichtigt, die Coronargefäße direkt mit Kanülen zu intubieren.

Bei *Carcharias*, *Mustelus* und *Scyllium* bestehen dorsale und ventrale Coronargefäße¹⁾. Bei *Acanthias* und *Sqatina* beschreibt J. Hyrtt²⁾ nur ventrale Coronargefäße, die gepaart vorkommen, wovon jedoch nur der rechte Zweig zum Ventrikel reicht.

Auf S. 376 und 377 des obenerwähnten Artikels Zeitschr. f. biol. Technik usw. 2, Heft 8 werden diese anatomisch-biologischen Eigenheiten erwähnt und die notwendigen Folgerungen, die sich daraus ergeben, in bezug auf die Zeiteinheit, in der Herzinhibition nach dem Moment der Vagusreizung eintreten müßte.

Die Zeichnungen auf S. 375 sollen nur klar machen, was geschieht, wenn die Technik die sofortige Zurücksendung von Blut aus dem Ventrikel des zweiten Selachiers (Nr. 2) nach den Kiemen von Nr. 1 dem Spendenden beabsichtigt. Da aber die Coronararterien erst nach Durchlaufen des Blutes durch die Kiemen abgegeben werden, erhalten diese Arterien kein Blut nach der auf S. 375 abgebildeten Technik.

Es ist nun der Hauptzweck dieser Ergänzung, mitzuteilen, daß andere weitere Versuche ausgeführt wurden, bei denen das Blut von Nr. 1 direkt durch die Coronararterien von Nr. 2 zum Ventrikel Nr. 2 geleitet wurde. Auch in diesen Versuchen ergab sich keine Verlangsamung und kein Stillstand des Schlagrhythmus von Herz Nr. 2.

Eine dritte Variation der Methodik bestand darin, daß die ventrale oder abdominale Aorta von Nr. 2 nicht mit einer Kanüle versehen, sondern so gelassen wurde, daß diese Ader das Blut intakt nach den Kiemen leiten konnte. Die Zurücksendung des Blutes von Nr. 2 nach Nr. 1 geschah dann durch eine Kanüle, die in die dorsale Aorta von Nr. 2 eingeführt

¹⁾ G. H. Parker, The Blood Vessels of the Heart in *Carcharias*, *Raja* and *Amia*. Proceedings of the Boston Society of Natural History 29, Nr. 8.

²⁾ Die Kopharterien der Haifische. Denkschr. d. akad. Wissensch. Wien. Math.-naturw. Klasse 15, 1 bis 36, Tafel 1 bis 5.

wurde und mittels einer ziemlich rund gebogenen Glasröhre vom Rücken des Selachiers Nr. 2 nach der Vena abdominalis lateral von Nr. 1 zurückgeleitet wurde.

Der gekreuzte, gegenseitige Kreislauf zwischen den beiden Tieren erfolgte dann in der folgenden Weise. Vom Ventrikel des Selachiers Nr. 1 durch die Bauchaorta, durch die längere Glasröhre nach der seitlichen Bauchvene zum Sinus venosus Nr. 2 (alle anderen Bauchgefäße und der Sinus von Cuvier abgebunden), vom Sinus venosus durch Vorhof zur Herzkammer, dann durch die Bauchaorta, durch die Kiemen; ein Teil des Blutes strömt durch die mediale Hypobronchialader zu den Coronargefäßen zurück, doch ein größerer Teil durch die Dorsalaorta zurück zum spendenden Herzen Nr. 1. Wenn direkt in die Coronararterien gespeist wird, kann es vorkommen, daß das von Herz Nr. 1 kommende Blut unter zu hohem Druck für die Coronaradern des zweiten Selachierherzens hier ankommt und es wird zuweilen nötig, diesen Druck und die Quantität des zugeführten Blutes durch Klemmen usw. zu regeln.

Zur Kenntnis der Hefereduktase.

Von

Sergius Lvoff.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Kaiserl. Universität zu
St. Petersburg.)

(Eingegangen am 1. Juli 1914.)

1. Über die Proportionen I und II.

In der vorigen Arbeit¹⁾ ist von mir gezeigt worden, daß zwischen den in Gegenwart von Hefe stattfindenden Gärungs- und Reduktionsprozessen ein innerer Zusammenhang beobachtet wird, den ich quantitativ festzustellen versuchte. In meinen Versuchen ließ ich die in der Hefe stets anwesende Reduktase den von ihr aktivierten Wasserstoff auf irgendeinen Acceptor übertragen, welcher letzterer fähig war, diesen Wasserstoff aufzunehmen und denselben an sich zu fixieren. Als solchen Acceptor benutzte ich in meinen Versuchen das Methylenblau. Durch Abwarten des Moments der völligen Entfärbung des Methylenblaus konnte ich quantitativ den im Reduktionsprozeß aus dem Gärungsmedium entzogenen Wasserstoff bestimmen; zu diesem Zwecke ist es nämlich nur nötig zu wissen, wieviel Methylenblau zum Versuche genommen worden war und dann die betreffende Berechnung zu machen. Durch solche Bestimmung der Menge des aus dem Gärungsmedium entnommenen Wasserstoffes und zugleich der Änderungen in der Ausbeute der Gärungsprodukte während desselben Zeitraumes, konnte ich die quantitativen Beziehungen zwischen beiden Prozessen feststellen und habe dabei zwei Grundsätze aufgestellt, von denen der eine auf die Selbstgärungsbedingungen (in Ab-

¹⁾ Sergius Lvoff, Hefegärung und Wasserstoff. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 3, 289, 1913.

wesenheit von Zucker) von mir zurückgeführt worden war, der andere auf die Bedingungen der normalen Gärung (in Gegenwart von Zucker).

1. Die Entziehung zweier Atome Wasserstoff aus dem Gärungsmedium unter den Bedingungen der Selbstgärung ruft die Ausscheidung von einem überschüssigen Molekül CO_2 hervor.

Hieraus folgt, daß man auf jede 100 mg reduziertes Methylenblau eine Ausscheidung von 11,8 mg überschüssiger CO_2 zu erwarten hat.

Diesem Grundsatz entspricht die Proportion, nach der man, von der Menge des reduzierten Methylenblaus (a) ausgehend, berechnen kann, wieviel überschüssige CO_2 (x) sich während des Versuches ausscheiden muß.

$$100 : 11,8 = a : x \dots\dots\dots \text{I}$$

Diese Proportion wird der Kürze halber weiterhin Proportion I genannt.

2. Die Entziehung zweier Atome Wasserstoff aus dem Gärungsmedium unter den Bedingungen der normalen Gärung (in Gegenwart von Zucker) setzt die Ausbeute der Gärungsprodukte um 2 Moleküle CO_2 und 2 Moleküle Alkohol herab.

Hieraus folgt, daß auf jede 100 mg reduziertes Methylenblau eine Herabsetzung der CO_2 -Ausbeute um 23,5 mg zu erwarten ist.

Die entsprechende Proportion, die ich weiterhin Proportion II benenne, wird folgendermaßen ausgedrückt:

$$100 : 23,5 = a : x \dots\dots\dots \text{II}$$

Die erste Proportion ist eine Stimulationsproportion, die zweite eine Depressionsproportion.

Infolge solchen entgegengesetzten Charakters beider Proportionen nahm ich an, daß dieselben verschiedenen Prozessen angehören, und sprach die Vermutung aus, ob die Proportion I sich nicht etwa auf die Zersetzung der Amidosäuren in Gegenwart von Wasserstoffacceptoren beziehe.

Im Falle der Richtigkeit dieser Vermutung wäre zu erwarten, daß durch Zusatz von entsprechenden Amidosäuren zu dem Gärungsmedium, in dieser Portion die Menge der überschüssigen CO_2 , wie auch die Menge des reduzierten Methylenblaus zunehmen werde. Seitdem sind von mir Versuche mit

einigen Amidosäuren, nämlich Glykokoll, Leucin, Thyrosin und Alanin, angestellt worden. Alle diese Versuche ergaben vollständig negative Resultate. Portionen mit Amidosäuren und ohne Amidosäuren lieferten ganz gleiche Mengen überschüssiger CO_2 und wiesen keinen Unterschied im Gange der Reduktion des Methylenblaus auf.

Gegenwärtig lasse ich die Vermutung über den Zusammenhang zwischen der Proportion I und der Zersetzung der Amidosäuren vollständig beiseite und auf Grund der weiter beschriebenen Versuche komme ich zum Schlusse, daß die erste wie auch die zweite Proportion mit dem Prozesse der Zuckerverarbeitung im Gärungsmedium eng verbunden ist.

Bevor ich aber zur Beschreibung der Versuche übergehe, will ich noch einiges über die von mir in dieser Arbeit angewandten Methodik bemerken.

Der Hauptmangel in meinen früheren Versuchen bestand darin, daß ich den folgerechten Verlauf der Reduktion des Methylenblaus nicht verfolgen konnte. Vom Anfange des Versuchs an registrierte ich nur einen Moment, nämlich den der völligen Entfärbung des Methylenblaus; diesen ganzen, manchmal langdauernden Prozeß in einzelne Stadien zu zerlegen, war ich nicht imstande.

Zurzeit benutze ich die Methode der Titrierung des Methylenblaus durch Titantrichloridlösung. Diese Methode ist von E. Knecht und E. Hibbert¹⁾ vorgeschlagen worden, von H. Wichern²⁾ bedeutend vereinfacht worden und hat schon Anwendung in bakteriologischen Laboratorien³⁾ gefunden.

Der Titer der Titantrichloridlösung wurde mit Hilfe des Methylenblaus selbst (Kahlbaums Präparat, kryst. zinkfrei) eingestellt. Bei geeignetem Aufbewahren der Lösung hält sich der Titer sehr lange (in den weiter beschriebenen Versuchen ändert sich manchmal der Titer von Versuch zu Versuch, was davon abhängt, daß dieselben nicht in chronologischer Reihe betreffs ihrer Ausführung beschrieben sind). Die Kolben, denen die Proben für die Bestimmung der Menge des zurückgebliebenen

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **36**, 1549, 1903; **38**, 3318, 1905.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 365, 1908.

³⁾ Siehe z. B. die Abhandlungen E. Freds, Centralbl. f. Bakt. II. **35**, 391, 1912.

nicht reduzierten Methylenblaus entnommen wurden, wurden durch einen Kohlensäurestrom überschwemmt und durch einen Quecksilberverschluß fest geschlossen, aus dem mittels einer einfachen Vorrichtung die Luft ebenso vom Kohlensäurestrom verdrängt wurde.

Die Gärungskohlensäure wurde durch Wägen in mit Gärventil nach Meiße und Gummischlauchventil nach Bunsen versehenen Kolben bestimmt. Diese Kolben wurden ebenso mit Kohlensäure überschwemmt. Alle in Kolben zu versetzenden Lösungen wurden vorher mit Kohlensäure gesättigt. Vor jeder Wägung wurde der Inhalt tüchtig geschüttelt, um Übersättigung der Flüssigkeit durch CO_2 zu vermeiden. Den zur Titrierung des Methylenblaus bestimmten Kolben wurden in folgerechten Zeiträumen Proben mit einer 5-ccm-Pipette entnommen, die unter einer Schicht flüssigen Paraffins oder Vaselins im Kohlensäurestrom titriert wurden.

Die Anfangszahl wurde auf andere Weise bestimmt: in einen besonderen Kolben wurde mittels einer Pipette ebensoviel Methylenblaulösung abgemessen, wie in die Versuchskolben, und dann mit Wasser bis zu demselben Volumen gefüllt, aber ohne Hefe. Hiervon wurde eine Probe von 5 ccm genommen und titriert.

Letzteres wurde gemacht, um bei der ersten Bestimmung irgendwelche vorherige Reduktion des Methylenblaus zu vermeiden. Da 6 g Trockenhefe das Volumen um 4 ccm vergrößern, so wurde in diesen Kolben eine entsprechende Menge Kubikzentimeter Wasser hinzugefügt. Was die Anfertigung der Methylenblaulösungen betrifft, so sei hier folgendes bemerkt. Mir war es öfters erwünscht, Lösungen von der Konzentration 3 bis 4‰ zu besitzen; in kaltem Wasser löst sich Methylenblau sehr schlecht, in erwärmtem steigt die Löslichkeit sehr. Durch Erwärmen erzielte 3 bis 4‰ige Lösungen krystallisieren mit der Zeit während des Stehens. Aber dieser Krystallisationsprozeß tritt nicht gleich ein: während vieler Stunden behalten die gekühlten Lösungen ihren homogenen Charakter. Ich benutzte öfters diese Eigenschaft des Methylenblaus zur Darstellung kalter Lösungen von gewünschter Konzentration.

In alle Kolben wurden 2 bis 3 ccm Toluol getan.

Versuch 1.

Portion I. Mit Methylenblau. 15 ccm frisch filtrierten Macerations-saft + 20 ccm 20%iger Glucoselösung + 15 ccm 2%iger Methylenblau-lösung (300 mg). Quecksilberverschluß. Diente zur Titrierung.

Portion II. Dasselbe. Ventil. Zur CO₂-Bestimmung.

Portion III. Kontrolle. Statt Methylenblau 15 ccm Wasser. Ventil. Zur CO₂-Bestimmung.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zugunsten III	
	I			II	III		
	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm	Methylenblau zurück- geblieben mg	reduziert mg	CO ₂ mg	CO ₂ mg	ge- funden	berechnet nach Pro- portion II
0	9,1	300	—	—	—	—	—
1 ¹ / ₂	6,0	198	102	62,5	80,0	17,5	24,0
2	4,2	138	60	47,5	63,5	16,0	14,1
2	3,3	109	29	51,0	59,0	8,0	6,8

Versuch 2.

In jeder Portion je 5 g Trockenhefe nach Lebedew. Die Ein-
teilung der Portionen wie im Versuch 1. Methylenblau für I und II zu
je 600 mg. Glucose überall zu je 10 g. Die Titantrichloridlösung ist
viel schwächer.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zugunsten III	
	I			II	III		
	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm	Methylenblau zurück- geblieben mg	reduziert mg	CO ₂ mg	CO ₂ mg	ge- funden	berechnet nach Pro- portion II
0	33,3	600	—	—	—	—	—
2	21,7	391	209	81,5	121,5	40,0	49,1
1 ¹ / ₂	17,3	312	79	62,0	82,5	20,5	18,6
1 ¹ / ₂	13,4	241	71	56,0	75,5	19,5	16,7
4	6,3	114	127	101,5	136,0	34,5	29,8
14	über Nacht entfärbt	0	114	185,5	274,5	89,0	26,8

Diese Versuche sind schon vor einem Jahre mit Hefe von früherem
Bezug ausgeführt worden. Im ganzen stimmen die erzielten Resultate
vollständig mit den Resultaten meiner älteren Versuche überein. Wie
auch dort, wird die Herabsetzung der CO₂-Ausbeute in der II. Portion
im Vergleich zur III. (Kontroll-) Portion schon bei der ersten Ablesung
beobachtet und folgt ziemlich nach der II. Proportion. Die schroffe
Unterdrückung während der letzten 14 Stunden im 2. Versuche, welche
die theoretisch berechnete Zahl weit übertrifft, setzte mich nicht in Er-
staunen, da auch in den früheren Versuchen mit Trockenhefe (schon)
nach gewissem Zeitraume gewöhnlich eine schroffe Herabsetzung be-

obachtet wurde und eine nahe Übereinstimmung der gefundenen und berechneten Zahl gewöhnlich nur dann konstatiert wurde, wenn der Reduktionsprozeß in verhältnismäßig kurzer Zeit beendet war¹⁾.

Bei diesen zwei Versuchen muß noch auf folgendes hingewiesen werden: die ersten Ablesungen wie im ersten so auch im zweiten Versuche ergaben eine viel geringere Differenz zwischen der III. und II. Portion als zu erwarten war (17,5 gegen 24 im 1. Versuche und 40 gegen 49,1 im 2. Versuche). Bei den nachfolgenden Ablesungen wurde dieses nicht mehr beobachtet. Anfangs beachtete ich diesen Umstand gar nicht und hielt ihn für zufällig. Als ich aber zu den Versuchen mit Hefe neuesten Bezugs überging, so erwies sich, daß diese Hefe in den ersten Stunden der Gärung keine Herabsetzung der CO₂-Ausbeute durch Methylenblauzusatz erleidet, sondern im Gegenteil eine auffallende Stimulation aufweist, wobei diese Stimulation in ganz bestimmter Weise nach der Proportion I verläuft. Nach einiger Zeit hört die Stimulation auf und fängt die Depression an, die im allgemeinen nach der Proportion II erfolgt. Dieses wird durch folgende zwei Versuche illustriert.

Versuch 3.

I. Portion: 10 ccm Methylenblaulösung (298 mg) + 30 ccm Saccharoselösung (6 g) + 10 ccm Wasser + 4 g Trockenhefe. Mit Quecksilberverschluß, zur Titration.

II. Portion: Dasselbe, mit Ventil, zur CO₂-Bestimmung.

III. Portion: Kontrolle, statt Methylenblaulösung 10 ccm Wasser, mit Ventil, zur CO₂-Bestimmung.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zu- gunsten II		Differenz zu- gunsten III	
	I			II	III				
	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm	Methylenblau		CO ₂	CO ₂	gefunden	berechnet nach Pro- portion I	gefunden	berechnet nach Pro- portion II
		zurück- ge- blieben mg	redu- ziert mg	mg	mg				
0	16,9	298	—	—	—	—	—	—	—
2 ¹ / ₂	8,8	155	143	119	105	14	16,9	—	—
2 ¹ / ₂	6,8	120	35	51	46	5	4,1	—	—
12	3,7	65	55	157	167	—	—	10,0	12,9
24	Entfärb.	0	65	97	114,5	—	—	17,5	15,3

¹⁾ Siehe Versuche 6 bis 9, S. Lvoff, l. c.

Versuch 4.

I. Portion: 20 ccm Methylenblaulösung (296 mg) + 20 ccm Saccharoselösung (8 g) + 20 ccm Wasser + 5 g Hefanol.

II. Portion: Dasselbe, mit Ventil, zur CO_2 -Bestimmung.

III. Portion: Statt Methylenblau 20 ccm Wasser, mit Ventil, zur CO_2 -Bestimmung.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zu- gunsten II		Differenz zu- gunsten III	
	I			II	III				
	Menge TiCl_3 auf 5 ccm	Methylenblau zurück- ge- blieben mg	redu- ziert mg	CO_2 mg	CO_2 mg	gefunden	berechnet nach Pro- portion I	gefunden	berechnet nach Pro- portion II
0	20,3	296	—	—	—	—	—	—	—
2	14,8	216	80	22,5	15,0	7,5	9,4	—	—
1 $\frac{1}{2}$	11,4	166	50	30,5	25,5	5,0	5,9	—	—
4	7,1	103	63	70,0	81,0	—	—	11,0	14,8
12	1,9	27	76	121,5	142,0	—	—	20,5	17,9
8	0	0	27	53,0	65,5	—	—	12,5	6,3

Die Stimulation nach der I. Proportion tritt ganz deutlich hervor und hält sich während einiger Anfangsstunden der Gärung (2—3—5). In früheren Versuchen zeigte sich die Depression regelmäßig bei der ersten Ablesung, soweit man darüber nach der CO_2 -Ausbeute urteilen konnte. Da es aber bei der alten Methodik unmöglich war, ohne folgerechte Bestimmungen der Mengen des reduzierten Methylenblaus während einzelner Perioden, über eine Analogie zwischen der gefundenen und berechneten Zahl ein Urteil zu fällen, so wäre es zulässig, daß auch dort während der Anfangsperiode der Gärung eine Stimulation zum Vorschein kam. Die ersten Ablesungen in den Versuchen 1 und 2 beweisen solch eine Möglichkeit vollständig. Dabei muß man aber auch den Schluß ziehen, daß diese eigenartige Anfangsperiode bei verschiedenen Hefepräparaten von verschiedener Dauer und manchmal beinahe gleich Null sein kann. Es ist noch zu bemerken, daß es bei neuer Hefe nicht gelingt, mittels Methylenblau so eine, beinahe völlige Unterdrückung der Gärung zu erzielen, wie das bei alter Hefe der Fall war¹⁾. Der Grund ist offenbar derselbe: die Erweiterung der anfänglichen Stimulationsperiode auf Kosten der folgenden Depressionsperiode.

¹⁾ S. Lvoff, l. c. Versuch 5.

Diese anfängliche Stimulationsperiode stellt kein gewöhnliches mechanisches Übertragen des unter den Bedingungen der Selbstgärung beobachteten Prozesses dar, sondern ist hier zweifellos mit dem Prozesse des Zuckerverarbeitens verbunden. Das ist aus folgendem Versuche zu ersehen.

Versuch 5.

Es wurden 4 Portionen mit je 4 g Trockenhefe aufgestellt.

I. Portion: Ohne Zucker mit Methylenblau. Quecksilberschluß, zur Titration. 20 ccm Methylenblaulösung (590 mg) + 30 ccm Wasser.

II. Portion: Mit Zucker und Methylenblau. Quecksilberschluß, zur Titration. 20 ccm Methylenblau + 30 ccm Glucoselösung (12 g).

III. Portion: Dasselbe. Ventil, zur CO_2 -Bestimmung.

IV. Portion: Kontrolle, ohne Methylenblau, mit Zucker. 20 ccm Wasser + 30 ccm Glucoselösung (12 g). Ventil, zur CO_2 -Bestimmung.

Zeit in Stunden	Portion						Differenz zu- gunsten III		Differenz zu- gunsten IV	
	I	II		III		IV	gefunden	Berechnet nach Pro- portion I	gefunden	berechnet nach Pro- portion II
	Menge TiCl_3 auf 5 ccm	Menge TiCl_3 auf 5 ccm	Methylenblau zurück- ge- blieben mg	redu- ziert mg	CO_2 mg	CO_2 mg				
0	49,1	49,1	590	—	—	—	—	—	—	—
1	—	43,0	517	73	39,5	30,5	9,0	8,6	—	—
1 $\frac{1}{2}$	44,0	37,2	447	70	50,5	43,5	7,0	8,2	—	—
3	41,9	33,0	397	50	67,0	62,0	5,0	6,0	—	—
5	40,8	29,4	353	44	69,0	75,0	—	—	6,0	10,3
12	38,9	21,0	252	101	128,0	148,0	—	—	20,0	23,5
6	38,4	17,1	205	47	35,5	48,0	—	—	12,5	11,0
6	38,2	15,4	185	20	25,5	32,5	—	—	7,0	4,7
15	38,0	12,0	144	41	11,5	57,5	—	—	46,0	9,6

Während der ersten 5 $\frac{1}{2}$ Stunden Gärung wird eine deutliche Stimulation der CO_2 -Ausbeute in der Portion III mit Methylenblau beobachtet. Diese Stimulation erfolgt in ganz bestimmter Weise nach der I. Proportion. Wie aber der Vergleich der Zahlen der I. und II. Portion zeigt, geht während desselben Zeitraums in der II. Portion, d. h. in Gegenwart von Zucker, eine viel energischere Reduktion des Methylenblaus vorstatten, als in der I. Portion, ohne Zucker. Hieraus folgt, daß der Zucker in dieser oder jener Form an jenem Reduktionsprozesse, der von einer Ausscheidung der überschüssigen CO_2 laut Proportion I begleitet wird, teilnimmt. Eine ganze Reihe ähnlicher Versuche ergab dieselben Resultate. Wenn ich

diese Resultate mit den negativen Ergebnissen meiner Versuche mit Amidosäuren vergleiche, komme ich zu dem bestimmten Schlusse, daß die I. wie auch die II. Proportion eng mit den im Gärungsmedium stattfindenden Prozessen der Zuckerverarbeitung verbunden sind.

Folgende zwei Versuche sind angestellt worden, um zu ermitteln, ob eine Zugabe von Koferment und Phosphaten zu dem Gärungsmedium einen Einfluß auf den Verlauf der Stimulations- und Depressionsprozesse ausübe.

Versuch 6.

60 g Trockenhefe wurden mit 300 ccm Wasser geschüttelt, bei 100° während $\frac{1}{2}$ Stunde durchwärmt und dann abfiltriert. Das Filtrat wurde nochmals durchwärmt, abfiltriert und dann in die Kolben versetzt.

I. Portion: 20 ccm Filtrat + 15 ccm Methylenblau (490 mg) + 20 ccm Glucoselösung (6 g) + 4 g Trockenhefe. Quecksilberschluß, zur Titration.

II. Portion: Dasselbe. Ventil, zur CO₂-Bestimmung.

III. Portion: Kontrolle, ohne Methylenblau (15 ccm Wasser). Ventil, zur CO₂-Bestimmung.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zu- gunsten II		Differenz zu- gunsten III	
	I			II	III	gefunden	berechnet nach Pro- portion I	gefunden	berechnet nach Pro- portion II
	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm	zurück- ge- blieben mg	redu- ziert mg	CO ₂ mg	CO ₂ mg				
0	24,9	490	—	—	—	—	—	—	—
1	17,9	352	138	115,5	101,5	14,0	16,3	—	—
1 $\frac{1}{4}$	15,6	307	45	42,5	47,0	—	—	4,5	10,6
3	12,5	246	61	78,0	90,5	—	—	12,5	14,3
3 $\frac{1}{2}$	10,0	197	49	75,5	88,5	—	—	13,0	11,7
4	8,4	165	32	69,5	79,5	—	—	10,0	7,5
14	3,5	68	97	245,5	285,0	—	—	39,5	22,8

Versuch 7.

I. Portion: 20 ccm Lösung von einem Gemisch von Phosphaten, das dem Neutralisationspunkte¹⁾ nahe ist (mit einem Gehalt von etwa 160 mg PO₄) + 15 ccm Methylenblau (495 mg) + 20 ccm Glucoselösung (6 g) + 4 g Trockenhefe. Quecksilberschluß, zur Titration.

II. Portion: Dasselbe. Ventil, zur CO₂-Bestimmung.

III. Portion: Kontrolle, ohne Methylenblau (15 ccm Wasser). Ventil, zur CO₂-Bestimmung.

¹⁾ Siehe Kapitel 2.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zu- gunsten II		Differenz zu- gunsten III	
	I			II	III				
	Menge TiCl_3 auf 5 ccm	Methylenblau		CO_2	CO_2	gefunden	berechnet nach Pro- portion I	gefunden	berechnet nach Pro- portion II
		zurück- ge- blieben mg	redu- ziert mg	mg	mg				
0	25,1	495	—	—	—	—	—	—	—
$1\frac{1}{4}$	19,2	383	112	123,5	112,5	11,0	13,2	—	—
$1\frac{1}{2}$	16,3	326	57	38,5	35,5	3,0	6,7	—	—
$3\frac{1}{4}$	12,5	251	75	76,5	91,0	—	—	14,5	17,6
16	6,0	123	128	230,0	260,0	—	—	30,0	30,1
$5\frac{1}{2}$	3,8	80	43	62,0	73,0	—	—	11,0	10,1

Hier ist zu bemerken, daß die Zugabe von Koferment und Phosphaten zu dem Gärungsmedium die anfängliche Stimulationsperiode nicht beseitigt hat; allem Anscheine nach hat die Zugabe von Phosphaten eine Verlängerung der Depressionsperiode mit ziemlich regelrechter Übereinstimmung der durch Versuch gefundenen und der theoretisch berechneten Zahlen hervorgerufen.

Zum Schlusse führe ich noch einen Versuch an, der zeigt, daß bei einigen Eigenschaften des Gärungsmediums auch solche Fälle möglich sind, wo die gewöhnlich auf die anfängliche Stimulationsperiode folgende Depressionsperiode fast gänzlich verschwindet und zum Ende des Versuches eine gesteigerte Stimulation hervortritt, die die Norm beträchtlich übertrifft. Solche Fälle habe ich vorläufig nur am Macerationssaft beobachtet.

Versuch 8.

Der Saft wurde etwa 20 Stunden bei 10° filtriert.

I. Portion: 20 ccm Saft + 15 ccm Methylenblau (480 mg) + 20 ccm Glucoselösung (10 g). Quecksilberverschluß, zur Titration.

II. Portion: Dasselbe. Ventil, zur CO_2 -Bestimmung.

III. Portion: Kontrolle, ohne Methylenblau (15 ccm Wasser). Ventil, zur CO_2 -Bestimmung.

Zeit in Stunden	Portion					Differenz zugunsten II	
	I			II	III		
	Menge TiCl_3 auf 5 ccm	Methylenblau		CO_2	CO_2	ge- funden	berechnet nach Pro- portion I
		zurück- geblieben mg	reduziert mg	mg	mg		
0	37,3	480	—	—	—	—	—
3	28,3	364	116	125,5	112,5	13,0	13,7
$2\frac{1}{2}$	24,5	315	49	92,0	84,0	8,0	5,8
4	22,0	283	32	77,0	71,0	6,0	3,8
13	13,0	167	116	85,0	37,0	48,0	13,7

Über die mögliche Erklärung dieses quasi von der Norm abweichenden Falles siehe weiter Kapitel II.

II. Hefereduktase und Phosphate.

Schon in der vorigen Arbeit¹⁾ habe ich mit Bestimmtheit die Meinung ausgesprochen, daß die Zymase und Reduktase sich in engem Zusammenhange miteinander befinden, daß eigentlich die Reduktase als Grundagens der Alkoholgärung erscheint. In betreff der Zymase sind durch die Arbeiten von Leonid Iwanoff und besonders durch die klassischen Untersuchungen von Harden und Young zwei Grundsätze festgestellt worden: 1. die Teilnahme der Phosphate an der Gärung, 2. die Notwendigkeit einer besonderen thermostabilen Substanz, sog. Koferments, zur Verwirklichung der Gärung. Was die Reduktase betrifft, mußte auch hier festgestellt werden, ob sie in ihrer Tätigkeit denselben Bedingungen unterworfen ist. Zur Aufklärung der Rolle des Koferments im Reduktionsprozesse benutzte ich zu einem Versuche dialysierten Macerationssaft, in anderen befreite ich Zymin durch Waschen mit kaltem Wasser vom Koferment. Die Dialyse des Saftes wurde von meinem Laboratoriummitgenossen D. Sabinin ausgeführt (für seine Arbeit). Derselbe kontrollierte auch den dialysierten Saft und das Dialysat, jedes einzeln auf Abwesenheit von Gärfähigkeit und auf deren Wiederkehr bei Zusammenfügung derselben. Ich erachte es als meine Pflicht, D. Sabinin hier meinen Dank für den mir überlassenen Saft auszusprechen. Wie dieser Versuch, so ergaben auch diejenigen mit gewaschenem Zymin in betreff der Reduktion des Methylenblaus ein ganz bestimmtes Resultat; diese Reduktion vollzieht sich, ähnlich wie die Gärung, nur in Gegenwart der beiden Faktoren. Ich beschreibe diese Versuche nicht ausführlich, da unterdessen die Arbeit von A. Harden und R. Norris²⁾ erschienen ist, in der dieselben eine Reihe ebensolcher Versuche angestellt haben und zu denselben Resultaten gelangt sind.

¹⁾ S. Lvoff, l. c.

²⁾ The Enzymes of washed Zymin and dried Yeast II. Reduktase, Biochemical Journ. 8, 100, 1914. In dieser Arbeit haben die Autoren u. a. den Einfluß des Natriumselenits auf die Gärung untersucht und sind zum Schlusse gekommen, daß dabei die Gärung, im Vergleich zur Kontrollportion, die stärkste Depression erleide, was sich gar nicht in

Ich gehe nun zu den Versuchen über den Einfluß der Phosphate auf die Reduktion über.

Ich benutzte das alkalische Phosphat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, das jetzt im Handel (Kahlbaum) unter der Etikette „Natriumphosphat zu Enzymstudien nach Sørensen“ zu haben ist, und versetzte es mit KH_2PO_4 , um möglichst nahe zum Neutralitätspunkt ($p_{\text{H}} = 7,07$) zu gelangen. In Sørensens Abhandlung¹⁾ ist eine Tabelle „Phosphatmischungen“ für diese zwei Phosphate enthalten: für $p_{\text{H}} = 6,98$ ist das Verhältnis 6 mol. sek. Phosph. + 4 mol. prim.; für $p_{\text{H}} = 7,17$ 7 mol. sek. + 3 mol. prim. angezeigt. Da das gewünschte $p_{\text{H}} = 7,07$ nahe zur Mitte liegt, so berechnete ich ungefähr das Mittelverhältnis und rundete es auf 11 mol. sek. + 6 mol. prim. ab. Es wurden laut diesem Verhältnisse genau 1 g saures Phosphat und 2,71 g alkalisches abgewogen, in einem Meßkolben in 250 ccm Wasser aufgelöst. In dieser 250-ccm-Lösung sind 1977,7 mg PO_4 enthalten; in 10 ccm 79,1 mg. Diese Lösung benutzte ich bei allen meinen Versuchen mit Phosphaten.

Zu jedem Versuche wurden mehrere Portionen aufgestellt, meistens 4. Die erste Portion (I) enthielt kein Phosphat (Kontrolle), zu den folgenden wurden steigende Dosen Phosphatlösung hinzugefügt. Alle Portionen enthielten eine bedeutende, aber dabei gleiche Menge Methylenblau, wurden bis zu ein und demselben Volumen gebracht, mit Quecksilberschluß versehen und im Thermostaten bis 35° gehalten. Nach einiger Zeit wurden mittels einer 5-ccm-Pipette Proben entnommen und in gewöhnlicher Weise titriert.

Die ersten Versuche haben gleich gezeigt, daß in Gegenwart von Zucker die Phosphate die Reduktion des Methylenblaus stark erhöht haben. Aus den Versuchen mit Trockenhefe erwies sich, daß bei nicht zu hohen Phosphatkonzen-

die Rahmen meiner II. Proportion fügen läßt. Hieraus könnte man nur eine Schlußfolgerung ziehen, daß das Natriumselenit giftig auf die Gärung einwirke, eine Folgerung, die auch von Frl. Korsakow auf Grund analoger, schon im Jahre 1910 von ihr veröffentlichter (Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1910) Versuche gemacht worden ist. Aus diesem Grunde ist Natriumselenit als Wasserstoffacceptor völlig unbrauchbar. Dasselbe muß auch über Chinon bemerkt werden, das ich einstens wegen seiner leichten Fähigkeit zur Reduktion bis Hydrochinon benutzen wollte.

¹⁾ Sørensen, Ergebnisse d. Physiologie 12, 437, 1912.

trationen ein bestimmtes Molekularverhältnis zwischen der Menge des zugefügten Phosphats und der Menge des überschüssig reduzierten Methylenblaus beobachtet wird, nämlich auf zwei Moleküle PO_4 wird ein überschüssiges Molekül Methylenblau reduziert. In den Versuchsprotokollen führe ich außer der auf experimentellem Wege erhaltenen Zahl auch die auf Grund der Molekularbeziehungen berechnete Zahl an.

2PO_4 rufen die Reduktion eines Moleküls $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{SCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ hervor. Folglich rufen $95 \times 2 \text{ mg PO}_4$ die Reduktion von 373,8 mg Methylenblau hervor. In 20 ccm meiner Phosphatlösung sind 158,2 mg PO_4 enthalten. Folglich sind diese 20 ccm fähig, eine vermehrte Reduktion von Methylenblau in der Menge x hervorzurufen, die nach der Proportion berechnet: $190 : 373,8 = 158,2 : x$

$$\begin{aligned} x \text{ (für 20 ccm)} &= 311,3 \text{ mg Methylenblau} \\ \text{für 10 ccm} &= 155,6 \text{ mg} \quad " \\ \text{für 5 ccm} &= 77,8 \text{ mg} \quad " \end{aligned}$$

Versuch 9.

4 Portionen zu je 4 g Trockenhefe + 60 ccm einer Lösung, die 1200 mg Methylenblau und 15 g Glucose enthält. Außerdem wurden in diese Kolben folgerecht 0, 3, 6, 12 ccm Phosphatlösung beigesetzt und 12, 9, 6, 0 ccm Wasser. Das Endvolumen betrug $72 + 2,5$ (von Hefe) = 74,5 ccm. 1 ccm Titantrichloridlösung reduziert 1,05 mg Methylenblau. In den weiter gedruckten Tabellen bedeuten die Zahlen die Menge der ccm TiCl_3 , die zur Reduktion bis zu Ende jenes Methylenblaus erforderlich sind, das in der aus dem betreffenden Kolben zur entsprechenden Zeit entnommenen 5-ccm-Probe noch unreduziert zurückgeblieben war. Um die gesamte Menge des in dieser Portion unreduziert gebliebenen Methylenblaus zu bestimmen, muß man die genannte Zahl mit $\frac{74,5}{5} \cdot 1,05 = 15,65$ multiplizieren. Das in analoger Weise zusammengestellte Produkt werde ich weiterhin als Koeffizienten benennen.

Die Anfangszahl (76,7) wird durch die Berechnung $\frac{1200}{15,65} = 76,7$ erhalten.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang					Differenz zwischen be- nachbart. Portionen	Dieselbe Diffe- renz in mg Methylenblau	
	0	6 Tage	8 Tage	11 Tage	13 Tage		Gef.	Ber.
I	76,7	44,2	42,9	41,0	40,3			
II	76,7	41,5	40,1	38,3	37,5	2,8	43,8	46,7
III	76,7	38,7	37,4	35,6	34,8	2,7	42,3	46,7
IV	76,7	33,3	31,8	30,2	29,3	5,5	86,1	93,3

Die Übereinstimmung zwischen den gefundenen und berechneten Zahlen ist ziemlich vollständig, obgleich alle ersten Zahlen etwas niedriger als die zweiten sind. Charakteristisch ist, daß bei der ersten Ablesung (am 6. Tage vom Versuchsanfange) die Differenz zwischen benachbarten Portionen schon die Endwerte ganz erreicht hat (2,7; 2,8; 5,4).

Versuch 10.

4 Portionen zu je 6 g Trockenhefe + 60 ccm einer Lösung, die 1800 mg Methylenblau und 15 g Glucose enthält. Außerdem wurden folgerrecht hinzugefügt: 0, 5, 10, 15 ccm Phosphatlösung und 15, 10, 5, 0 ccm Wasser. Das Endvolumen betrug $75 + 4$ (von Hefe) = 79 ccm.

Der Titer TiCl_2 = 1,05. Der Koeffizient = $\frac{79}{5} \cdot 1,05 = 16,59$.

Die Anfangszahl wurde berechnet: $\frac{1800}{16,59} = 108,5$.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang				Differenz zwischen be- nachbart. Portionen	Dieselbe Diffe- renz in mg Methylenblau	
	0	7 Tage	8 Tage	11 Tage		Gef.	Ber.
I	108,5	52,6	51,2	47,9	4,3	71,3	77,8
II	108,5	48,2	46,8	43,6	4,4	73,0	77,8
III	108,5	43,9	42,6	39,2	4,1	68,0	77,8
IV	108,5	39,7	38,3	35,1			

Versuch 11.

4 Portionen zu je 3 g Trockenhefe + 60 ccm einer Lösung, die 1000 mg Methylenblau und 15 g Glucose enthält. Außerdem wurden folgerrecht hinzugefügt 0, 3, 6, 9 ccm Phosphatlösung und 9, 6, 3, 0 ccm Wasser. Das Endvolumen $69 + 2 = 71$ ccm. Titer = 1,05. Koeffizient

= $\frac{71 \cdot 1,05}{5} = 14,91$. Anfangszahl = $\frac{1000}{14,91} = 67,1$.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang			Differenz zwischen be- nachbarten Portionen	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	6 Tage	8 Tage		Gef.	Ber.
I	67,1	46,7	45,7	2,9	43,2	46,7
II	67,1	43,8	42,8	3,1	46,2	46,7
III	67,1	40,7	39,7	2,9	43,2	46,7
IV	67,1	37,8	36,8			

Versuch 12.

2 Portionen zu je 2 g Trockenhefe + 60 ccm einer Lösung, die 600 mg Methylenblau und 15 g Glucose enthält. Außerdem wurden zur I. — 5 ccm Wasser, zur II. — 5 ccm Phosphatlösung hinzugefügt.

Volumen = 66,8 ccm. Titer = 1,05. Koeffizient = $\frac{66,8}{5} \cdot 1,05 = 14,07$.

Anfangszahl = $\frac{600}{14,07} = 42,6$.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang		Differenz zwischen benachbarten Portionen	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	8 Tage		Gef.	Ber.
I	42,6	32,6	5,3	74,5	77,8
II	42,6	27,3			

In allen diesen Versuchen wurden verhältnismäßig geringe Mengen Phosphat angewandt und in allen wurde eine ziemlich vollständige Übereinstimmung zwischen den experimentell gefundenen und nach der Proportion berechneten Zahlen erzielt. Wenn man aber die Menge des beizufügenden Phosphats erhöht, so verschwindet mit der Steigerung der Konzentration die Übereinstimmung und die erzielten Zahlen sind viel niedriger als die erwarteten.

Versuch 13.

4 Portionen zu je 5 g Trockenhefe + 30 ccm Methylenblaulösung, + 20 ccm 40% ige Saccharoselösung. Außerdem wurden folgerecht hinzugefügt: 0, 5, 10, 20 ccm Phosphatlösung und 20, 15, 10, 0 ccm Wasser. Endvolumen = 73 ccm (3 von Hefe). 1 ccm TiCl_3 reduzierte 1,23 mg Methylenblau. Koeffizient = $\frac{73 \cdot 1,23}{5} = 17,96$. Die Anfangszahl wurde durch Titration einer 5-ccm-Probe aus einer besonderen Portion, in der zu 30 ccm derselben Methylenblaulösung 43 ccm Wasser hinzugefügt worden waren, bestimmt.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang						Differenz zwisch. benachbart. Portionen	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	1 Tag	2 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage		Gef.	Ber.
I	82,9	48,4	41,5	35,6	34,7	34,3	4,2	75,4	77,8
II	82,9	46,2	38,0	31,4	30,5	30,1			
III	82,9	45,4	35,0	27,5	26,4	26,1	5,8	104,2	155,6
IV	82,9	43,3	30,8	22,4	20,7	20,3			

Hier wird eine Übereinstimmung bei 5 und 10 ccm Phosphatlösung beobachtet, bei 20 ccm beträgt die gefundene Zahl nur etwa 70% der berechneten.

Versuch 14.

4 Portionen zu je 30 ccm Methylenblaulösung + 20 ccm Saccharoselösung (etwa 10 g) + 5 g Trockenhefe. Außerdem wurden folgerecht beigesetzt: 0, 10, 20, 30 ccm Phosphatlösung und 30, 20, 10, 0 ccm Wasser. Endvolumen = 80 + 3 (von Hefe) = 83 ccm. Titer = 1,23. Koeffizient = $\frac{83}{5} \cdot 1,23 = 20,4$. Anfangszahl (64,6) durch Titration von 5 ccm bestimmt, die einer besonderen Portion entnommen, wo zu 30 ccm der-

selben Methylenblaulösung 53 ccm Wasser hinzugefügt worden sind. Folglich wurden für jede Portion im ganzen $64,6 \cdot 20,4 = 1318$ mg Methylenblau genommen.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang						Differenz zwischen be- nachbart. Portionen	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	6 Tage	7 Tage	9 Tage	11 Tage	12 Tage		Gef.	Ber.
I	64,6	27,5	26,2	25,7	24,5	24,5	7,3	148,9	155,6
II	64,6	20,7	19,4	18,3	17,2	17,2	5,0	102,0	155,6
III	64,6	14,9	14,0	13,0	12,1	12,2	4,0	81,6	155,6
IV	64,6	9,9	8,8	8,3	8,2	8,2			

Für 10 ccm Phosphatlösung wurde eine nahe Analogie erzielt, mit Steigerung der Phosphatkonzentration weicht sie ziemlich von den berechneten Zahlen ab, indem sie in der IV. Portion (im Vergleich zur III.) bis auf etwa 50% der theoretischen Größe sinken.

Versuch 15.

(Mit den noch höheren Phosphatkonzentrationen.)

4 Portionen zu je 5 g Trockenhefe + 30 ccm Methylenblaulösung + 20 ccm Saccharoselösung (gegen 10 g). Hinzugefügt: Phosphatlösung 0, 20, 30, 40 ccm, Wasser 40, 20, 10, 0 ccm. Volumen = 93 (3 von Hefe). Koeffizient = 22,88.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang			Differenz zwischen be- nachbarten Portionen	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	8 Tage	9 Tage		Gef.	Ber.
I	53,9	23,3	23,1	12,0	274,6	311,3
II	53,9	11,5	11,1	4,0	91,5	155,6
III	53,9	7,5	7,1	3,8	86,9	155,6
IV	53,9	3,6	3,3			

Nur in der II. Portion kann man noch eine Analogie mit der berechneten Zahl bemerken, in den übrigen Fällen sind die Zahlen viel niedriger.

Folglich sind die Phosphate bei ihren erhöhten Konzentrationen nicht imstande, im vollen Maße den Effekt hervorzurufen, den man auf Grund arithmetischer Berechnung von denselben erwarten könnte. Dieser Umstand steht wahrscheinlich in engem Zusammenhange mit der analogen Tatsache, die Harden und Joung betreffs des Gärungsprozesses¹⁾ konstatiert haben.

Die Bedeutung desselben beiseite lassend, weise ich auf denselben hauptsächlich deswegen hin, weil er eine genügende

¹⁾ Harden und Joung, Proc. Roy. Soc. 80, 299, 1908.

Erklärung für jene Abweichungen von der Norm ermöglicht, die in den weiter beschriebenen Versuchen mit Macerationssaft beobachtet werden. In all diesen Versuchen, selbst bei niedrigen Konzentrationen des Phosphats, habe ich kein einziges Mal auch nur eine nahe Analogie mit der berechneten Zahl gefunden. Die erzielten Resultate kommen denjenigen bei den Versuchen mit Trockenhefe und hoher Phosphatkonzentration ziemlich nahe.

Versuch 16.

4 Portionen mit Macerationssaft. Der Saft wurde gegen 20 Stunden lang filtriert. Zu je 20 ccm Saft, 15 ccm 40%iger Saccharose (6 g), 30 ccm Methylenblaulösung. Außerdem wurden folgerecht hinzugefügt: 0, 5, 10, 20 ccm Phosphatlösung und 20, 15, 10, 0 ccm Wasser. Volumen = 85. Titer = 1,23. Koeffizient = $\frac{85}{5} \cdot 1,23 = 20,91$. Anfangszahl (66,2) in besonderer Portion bestimmt.

Portion	Zeit in Stunden						Differenz zw. benachbart. Port.	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	20	43	69	140	180		Gef.	Ber.
I	66,2	52,2	—	47,7	43,5	43,3	2,4	50,2	77,8
II	66,2	—	—	46,1	41,0	40,9	2,3	48,1	77,8
III	66,2	50,7	—	44,9	38,8	38,7	4,6	96,2	155,6
IV	66,2	—	46,9	42,9	34,8	34,1			

Versuch 17.

4 Portionen mit Macerationssaft. Filtriert gegen 18 Stunden bei 10 bis 14°. Die Portionen enthielten je 30 ccm Saft, 15 ccm Glucoselösung (etwa 10 g), 30 ccm Methylenblaulösung. Außerdem folgerecht zugefügt 0, 3, 6, 12 ccm Phosphatlösung und 12, 9, 6, 0 ccm Wasser. Volumen = 87 ccm. Titer = 1,1. Koeffizient = $\frac{87 \cdot 1,1}{5} = 19,14$.

Portion	Zeit vom Versuchsanfang						Differenz zw. benachbart. Port.	Dieselbe Differenz in mg Methylenblau	
	0	1 Tag	5 Tage	7 Tage	12 Tage	13 Tage		Gef.	Ber.
I	67,1	42,9	31,8	29,8	26,3	26,4	1,1	21,1	46,7
II	67,1	42,5	31,0	28,9	25,3	25,3	1,7	32,5	46,7
III	67,1	41,7	29,4	27,2	23,5	23,6	3,4	65,1	93,3
IV	67,1	40,3	26,5	24,0	20,1	20,2			

In diesem wie in jenem Versuche mit Saft ist, selbst bei so geringer Phosphatzugabe wie 5 ccm auf 85 ccm Endvolumen

im Versuche 16 und 3 ccm auf 87 ccm des Gesamtvolumens im Versuche 17 gar keine Übereinstimmung zwischen den berechneten und gefundenen Zahlen erzielt worden. Den Grund dafür sehe ich darin, daß der Macerationssaft (wenigstens meiner Zubereitung aus der von mir angewandten Hefe) sehr an freien Phosphaten angereichert erscheint, so daß die Gesamtkonzentration derselben die Phosphatkonzentration in den Versuchen mit Trockenhefe bedeutend übertrifft. Selbstverständlich, daß der Macerationssaft auf Zugabe von kleinen Phosphatdosen ebenso reagiert, wie die Trockenhefe auf die Zugabe von großen Phosphatdosen.

Weiterhin stelle ich die erzielten Resultate in zwei Tabellen zusammen, von denen die eine die Versuche mit Trockenhefe in Gegenwart von kleinen Phosphatmengen enthält, die andere alle Versuche mit Saft und jene Versuche mit Trockenhefe, in denen das Phosphat in beträchtlichen Dosen zugefügt wurde. Die Differenz der Mengen des reduzierten Methylenblaus für alle Portionen in diesen Tabellen ist im Verhältnis zu den Kontrollportionen berechnet worden, nicht aber zwischen benachbarten Portionen, wie das in den Protokollen der einzelnen Versuche der Fall war.

Tabelle I.

Für Trockenhefe mit niedrigen Phosphatkonzentrationen.

Nr. der Versuche	Nr. der Portion im Versuch	Menge des angewandten Phosphats ccm	Menge der angewandten Trockenhefe g	Um wieviel mg Methylenblau die Portion mehr als die Kontrollportion reduziert hat	Dieselbe Differenz nach der Proportion berechnet
9	II	3	4	43,8	46,7
9	III	6	4	86,1	93,3
9	IV	12	4	172,2	186,6
10	II	5	6	71,3	77,8
10	III	10	6	144,3	155,6
10	IV	15	6	212,3	233,4
11	II	3	3	43,2	46,7
11	III	6	3	89,4	93,3
11	IV	9	3	132,6	140,0
12	II	5	2	74,5	77,8
13	II	5	5	75,4	77,8
13	III	10	5	147,2	155,6
14	II	10	5	148,9	155,6

Tabelle II.

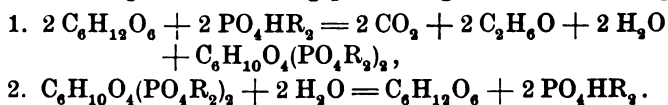
Für Trockenhefe mit hohen Phosphatkonzentrationen und für Macerationssaft nach Lebedow.

Nr. der Versuche	Nr. der Portion im Versuch	Menge des angewandten Phosphats ccm	Menge der angewandten Trockenhefe in g. Saft in ccm	Um wieviel mg Methylenblau die Portion mehr als die Kontrollportion reduziert hat	Dieselbe Differenz nach der Proportion berechnet	
13	IV	20	5 g	251,4	311,3	Trockenhefe nach Lebedow
14	III	20	5 g	250,9	311,3	
14	IV	30	5 g	332,5	466,9	
15	II	20	5 g	274,6	311,3	
15	III	30	5 g	366,1	453,0	
15	IV	40	5 g	453,0	622,5	
16	II	5	20 ccm	50,2	77,8	Macerationssaft
16	III	10	20 ccm	98,3	155,6	
16	IV	20	20 ccm	194,5	311,3	
17	II	3	30 ccm	21,1	46,7	
17	III	6	30 ccm	53,6	93,3	
17	IV	12	30 ccm	118,7	186,6	

Die Tabelle I gibt die Möglichkeit, eine ganz bestimmte Abhängigkeit der Reduktion des Methylenblaus von der Anwesenheit von Phosphaten im Gärungsmedium zu konstatieren. Auf Grund dieser Tabelle ist auch der oben formulierte Satz aufgestellt, daß auf 2 Moleküle PO_4 ergänzend ein überflüssiges Molekül Methylenblau reduziert wird.

An und für sich sind die anorganischen Phosphate nicht imstande Reduktionsreaktionen hervorzurufen. Folglich gehen diese 2 Moleküle PO_4 vorher irgendeine komplizierte phosphororganische Verbindung im Gärungsmedium ein, und nehmen dann in dieser Form an dem Reduktionsakte teil. Aber aus denselben experimentellen Daten geht ein anderer wichtiger Satz hervor: wenn eine bestimmte molekulare Abhängigkeit zwischen der Menge des zugefügten Phosphats und der Menge des überschüssig reduzierten Methylenblaus existiert, so folgt hieraus, daß diese 2 Moleküle PO_4 , nachdem sie einmal an der Reduktionsreaktion teilgenommen haben, zu solcher Reaktion schon nicht mehr fähig sind; sie werden aus dem Wirkungskreise wahrscheinlich durch Übergang von der früheren aktiven (im Verhältnis zum Reduktionsprozeß) Form in eine neue inaktive entfernt, und gehen für den weiteren im Gärungsmedium fortlaufenden Reduktionsprozeß völlig verloren.

Diese unbekannte Reaktion, bei der die aktive (im oben genannten Sinne) phosphororganische Verbindung (mit 2 PO_4) in eine inaktive Form übergeht, wird von einer Ausscheidung von 2 Atomen Wasserstoff, die durch 1 Molekül Methylenblau fixiert werden, begleitet. Ich habe aber früher gezeigt, daß die Entziehung zweier Wasserstoffatome unter den typischen Gärungsbedingungen die Ausbeute an CO_2 und Alkohol um je 2 Moleküle vermindert. Indem wir also 2 Moleküle PO_4 inaktivieren (mittels Reduktase, welche die 2 Wasserstoffatome auf 1 Molekül Methylenblau überträgt), verhindern wir dadurch 1 Molekül Hexose, sich in seine natürlichen Gärungsprodukte zu zersetzen, nämlich in 2 Moleküle CO_2 und 2 Moleküle $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$. Alle diese Beziehungen veranlassen uns zu den bekannten, von Harden und Joung für den Gärungsprozeß abgeleiteten Gleichungen:



Die erste dieser Gleichungen ist die fundamentale und umfaßt eigentlich den ganzen Gärungsprozeß; deswegen aber erscheint sie nicht als eine einfache, sondern als eine summare Gleichung, welche die Summe einer ganzen Reihe von uns vorläufig unbekannter Reaktionen darstellt. Diese Reaktionen fangen mit einer Vereinigung einiger Moleküle PO_4 und Hexose zu einem organischen Komplex an (unter Teilnahme anderer Ingredienzien des Gärungsmediums); nach verschiedenen inneren molekularen Umsetzungen zersetzt sich dann dieser Komplex, wobei das eine Molekül Hexose die Gärungsprodukte liefert, das andere, in Verbindung mit 2 Molekülen Phosphat, die bis zu diesem Momente ihre Funktionen beendet haben, erscheint in der Form von inaktivem Hexosephosphat, das als Abfall in der Gärung zu betrachten ist. Die zweite Gleichung zeigt, daß dieses Abfallprodukt nicht verloren geht, sondern sich unter Einwirkung eines besonderen Ferments in seine Komponenten spaltet und wieder von neuem in Wirksamkeit tritt.

Die Zusammenfassung der in dieser und der früheren Arbeit von mir abgeleiteten molekularen Beziehungen zeigt, daß dieselben in direktem Verhältnisse zu den Gleichungen Hardens und Jouns stehen. Die Entziehung zweier Wasserstoffatome inaktiviert (für den Reduktions- und Gärungsprozeß) 2 Moleküle PO_4 und setzt zugleich die Ausbeute an Gärungsprodukten um 2 Moleküle CO_2 und 2 Moleküle Alkohol herab. Aber laut den Gleichungen von Harden und Jounge rufen die 2 Moleküle PO_4 eine Reaktion hervor, die vom Austritt zweier Moleküle CO_2 und zweier Moleküle Alkohol begleitet wird. Durch Entfernung dieser 2 Moleküle PO_4 verhindern wir die genannte Reaktion.

Meine zweite Proportion ist mittelst der Phosphate mit den Gleichungen von Harden und Jounge verbunden. Es werden nun einige Tatsachen, die ich früher nicht erklären konnte, begreiflich. Schon in einer früheren Arbeit¹⁾ hatte ich die eigentümliche „Nachwirkung“ des Methylenblaus konstatiert: in den Versuchen mit Trockenhefe wurde selbst nach Beendigung des Reduktionsprozesses eine immer steigende Herabsetzung der CO_2 -Ausbeute beobachtet; bei andauernder Reduktion und bei großen Dosen Methylenblau er-

¹⁾ S. Lvoff, l. c. S. 309 bis 310.

wies sich die Depression allgemein viel größer, als es nach der Proportion zu erwarten war. Der Grund dafür ist nun klar: in dem Reduktionsprozeß werden die Phosphate allmählich aus dem Wirkungskreise entfernt und somit wird das Betriebskapital der Gärung immer mehr verringert. Ich nehme sogar an, daß die Abweichung von der Proportion in einigen Versuchen in Wirklichkeit früher eintreffen konnte, als es meine Zahlen registrierten: wahrscheinlich existierte auch dann, obgleich in schwacher Form¹⁾, die Anfangsperiode der Stimulation, die augenscheinlich die Übereinstimmung mit der Proportion verlängerte.

In den Versuchen mit Macerationssaft habe ich daselbst die umgekehrte „Nachwirkung“ des Methylenblaus konstatiert: gleich nach der Depressionsperiode wurde öfters eine stärkere CO₂-Ausscheidung beobachtet, als in den Kontrollportionen ohne Methylenblau. Diese Nachwirkung wird, wie es mir scheint, durch die Daten der Tabelle II erklärt. Der Macerationssaft erscheint im Vergleich zur Trockenhefe stark an freien Phosphaten angereichert. Überhaupt glaube ich, daß die während dieser Arbeitsperiode von mir angewandte Hefe reicher an Phosphaten war, als jene bei meinen früheren Versuchen; der Macerationssaft aber muß sich schon nach seiner Gewinnungsmethode an denselben anreichern. Aber die hohen Phosphatkonzentrationen wirken laut den bemerkenswerten Versuchen von Harden und Joung²⁾ auf die Gärung deprimierend ein. Je mehr in der Portion mit Methylenblau die Phosphate während des Reduktionsprozesses allmählich gebunden werden, desto niedriger wird ihre Konzentration, und diese Portion fängt an, mehr Zucker zu zersetzen als die Kontrollportion: der Depressionsprozeß wird durch den Überschuß durch den entgegengesetzten Prozeß gedeckt. Aus demselben Grund erkläre ich den Versuch 8 (mit Saft) dieser Arbeit.

Im Zusammenhange mit diesen Schlüssen, die aus den Daten der Tabelle I folgen, taucht eine wichtige Frage auf: Welcher phosphororganischen Verbindung paßt sich der Reduktionsmoment an? Derjenigen komplizierten (ihrer Zusammen-

¹⁾ Ähnlich wie in den Versuchen 1 und 2 in dieser Abhandlung.

²⁾ Proc. of the R. Soc. 80, 308, 1908.

setzung nach vorläufig noch unbekannten) Verbindung, die während der ersten Phasen der Gärung entsteht und deren Bildung der Zersetzung der Hexose in Alkohol und CO_2 vorangeht? oder jenem Hexosephosphat, das als Abfallsprodukt der Gärung erscheint?

Eigentlich kann meine zweite Proportion mehr oder weniger genügend bei dieser oder jener Lösung der Frage erklärt werden: die Inaktivierung zweier Moleküle PO_4 kann gleichsam in diesem oder jenem Falle stattfinden und mehr oder weniger gleichartige Folgen hervorrufen. Indessen hat die Lösung dieses Dilemmas eine große Bedeutung für die Lösung der Frage über die Beziehungen zwischen der Zymase und Reduktase.

Wenn der Reduktionsmoment sich der primären phosphororganischen Verbindung angliedert, so erscheint die Reduktase als wirksames Agens der Alkoholgärung, indem sie wahrscheinlich eine Umlagerung der Wasserstoff- und Hydroxylionen im Hexosemolekül hervorruft und schließlich dasselbe zur Spaltung in reduzierten ($\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\text{OH}$) und oxydierten (CO_2) Kohlenstoff führt.

Wenn aber das Reduktionsagens sich sekundär phosphororganische Verbindung aneignet, jenes Hexosephosphat, das als Abfallprodukt der Gärung erscheint, so wäre der Zusammenhang zwischen der Zymase und Reduktase ein ganz zufälliger, der künstlich durch Eintragen eines Wasserstoffacceptors (Methylenblau) von außen ins Gärungsmedium hergestellt wird. Die beschriebenen Versuche geben keine direkte Antwort auf diese Frage.

Der Versuch 7 in dieser Abhandlung, bei dem die dem Gärungsmedium beigefügten Phosphate ein gleichartiges Auflodern der Gärung wie in Abwesenheit so auch in Gegenwart von Methylenblau hervorriefen, spricht auf den ersten Blick für die zweite Lösung. Es ist aber nicht zu vergessen, daß das Auflodern der Gärung hier mit der Anfangsperiode der Stimulation zusammenfällt, was auf ganz eigenartige Verhältnisse des Gärungsmediums hinweist, weshalb dieser Versuch nicht von entscheidender Bedeutung ist.

In den weiter beschriebenen Versuchen sehe ich ein starkes (wenn auch nicht endgültiges) Argument zugunsten

der Lösung des oben formulierten Dilemmas in dem ersten Sinne.

Diese Versuche wurden angestellt, um den Lauf der Reduktion des Methylenblaus in Gegenwart und Abwesenheit von Zucker zu beobachten. Die ersten vier sind mit Trockenhefe angestellt, die letzten drei mit Macerationssaft. In Gegenwart von Zucker verläuft die Reduktion viel energischer als ohne Zucker. Aber zwischen diesen Versuchen wird für die ersten Stunden der Reduktion ein charakterischer Unterschied beobachtet: bei den Versuchen mit Macerationssaft wird in den ersten Stunden kein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Portionen beobachtet, nur später fängt die zuckerhaltige Portion an die zuckerlose rasch zu überholen; in den Versuchen mit Trockenhefe tritt der Unterschied schon in den ersten Stunden schroff hervor und dabei in sehr bestimmter Weise — die zuckerhaltige Portion reduziert Methylenblau beinahe doppelt so schnell als die zuckerlose.

Versuch 18.

2 Portionen zu je 4 g Trockenhefe; 20 ccm Methylenblaulösung (600 mg); zur I. Portion noch 30 ccm Zuckerlösung (10 g) versetzt, zur II. Portion 30 ccm Wasser. Anfangszahl (51,0) in besonderer Portion bestimmt.

1 ccm entspricht $\frac{600}{51} = 11,8$ mg.

Versuch 19.

2 Portionen zu je 4 g Trockenhefe + 20 ccm Methylenblaulösung (680 g). Zur I. Portion noch 40 ccm Saccharoselösung (10 g), zur II. Portion 40 ccm Wasser versetzt. Anfangszahl (30,0) in besonderer Portion bestimmt.

1 ccm entspricht $\frac{680}{30} = 22,7$ mg.

Versuch 20.

2 Portionen, wie im Versuch 19, nur mit anderer Trockenhefe. Alle Zahlen dieselben.

Versuch 21.

Mit gekochtem Filtrate von Trockenhefe. I. Portion: 20 ccm Filtrat + 40 ccm einer Lösung, in der 620 mg Methylenblau und 8 g Saccharose enthalten, + 4 g Trockenhefe. II. Portion: dasselbe, nur ohne Zucker. Anfangszahl (29,0) in besonderer Portion bestimmt. 1 ccm entspricht

$\frac{620}{29} = 21,4$ mg.

Versuch 18.

Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm		Um wieviel verringert		Wieviel mg Methylen- blau in ge- nannter Zeit reduziert wurden	
	I	II	I	II	I	II
0	51,0	51,0	—	—	—	—
1 ¹ / ₂	40,2	46,0	10,8	5,0	127	59
1	37,2	44,5	3,0	1,5	35	18
2	32,2	42,2	5,0	2,3	59	27
14	19,3	39,5	12,9	2,7	152	32
8	15,1	38,7	4,2	0,8	50	9

Versuch 19.

Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm		Um wieviel verringert		Wieviel mg Methylen- blau in ge- nannter Zeit reduziert wurden	
	I	II	I	II	I	II
0	30,0	30,0	—	—	—	—
1 ¹ / ₂	25,3	27,7	4,7	2,3	107	52
1 ¹ / ₂	23,1	26,6	2,2	1,1	50	25
4 ¹ / ₂	20,0	25,9	3,1	1,4	70	32
15	14,8	24,1	5,2	1,1	118	25
24	11,5	23,5	3,3	0,6	75	14

Versuch 20.

Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm		Um wieviel verringert		Wieviel mg Methylen- blau in ge- nannter Zeit reduziert wurden	
	I	II	I	II	I	II
0	30,0	30,0	—	—	—	—
1	24,9	27,7	5,1	2,3	116	52
2	22,0	26,3	2,9	1,4	66	32
3 ¹ / ₂	18,6	24,7	3,4	1,6	77	36
15	11,5	22,1	7,1	2,6	161	59
24	5,3	21,0	6,2	1,1	145	25

Versuch 21.

Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 ccm		Um wieviel verringert		Wieviel mg Methylen- blau in ge- nannter Zeit reduziert wurden	
	I	II	I	II	I	II
0	29,0	29,0	—	—	—	—
1	22,8	26,1	6,2	2,9	133	62
1 ¹ / ₂	20,2	24,8	2,6	1,3	56	28
4	16,6	23,1	3,6	1,7	77	36
3	14,6	22,1	2,0	1,0	43	21
15	8,2	20,1	6,4	2,0	137	43
22	5,3	19,1	2,9	1,0	62	21
24	3,1	18,6	2,2	0,5	47	11

Die mit fatter Linie umrahmten Zahlen, die sich auf die ersten Versuchsstunden beziehen, zeigen deutlich, daß in den ersten Stunden der Reduktion die zuckerhaltigen Portionen mit Trockenhefe doppelt soviel Methylenblau reduzieren, als zuckerlose. Weiter werden 3 Versuche mit Macerationssaft angeführt, bei dem keine ähnliche Verdoppelung beobachtet wird. Der Saft wurde für alle Versuche dauernd filtriert.

Versuch 22.

2 Portionen zu je 25 ccm Saft und 20 ccm Methylenblaulösung mit 804 mg. Außerdem wurden zur I. Portion 20 ccm Glucoselösung (etwa 10 g) zugefügt, zur II. Portion 20 ccm Wasser. Anfangszahl (56,2) in einer besonderen Portion bestimmt.

Versuch 23.

2 Portionen zu je 15 ccm Saft und 15 ccm Methylenblaulösung, + 15 ccm Zuckerlösung (I. Portion) oder 15 ccm Wasser (II. Portion). Anfangszahl (45,6) in besonderer Portion bestimmt.

Versuch 24.

2 Portionen zu je 25 cem Saft + 15 cem Methylenblaulösung + 20 cem Zuckerlösung (I. Portion) oder 20 cem Wasser (II. Portion). Anfangszahl (34,2) in besonderer Portion bestimmt.

Versuch 22.					Versuch 23.					Versuch 24.				
Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 cem		Um wieviel verringert		Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 cem		Um wieviel verringert		Zeit in Std.	Menge TiCl ₃ auf 5 cem		Um wieviel verringert	
	I	II	I	II		I	II	I	II		I	II	I	II
0	56,2	56,2	—	—	0	45,6	45,6	—	—	0	34,2	34,2	—	—
1 1/2	40,5	41,7	15,7	14,5	1 1/2	36,5	37,4	9,1	8,2	1	27,5	28,1	6,7	6,1
5	34,6	37,1	5,9	4,6	4	30,5	35,2	6,0	2,2	1	26,1	26,9	1,4	1,2
20	30,5	35,5	4,1	1,6	18	15,6	33,4	14,9	1,8	4	24,0	25,1	2,1	1,8
24	24,0	33,3	6,5	2,2	8	10,8	32,7	4,8	0,7	16	21,8	24,4	2,2	0,7

Hier ist der Verlauf der Reduktion ein ganz anderer: in den ersten Stunden unterscheiden sich die zuckerhaltigen und zuckerlosen Portionen voneinander fast gar nicht, der Unterschied (zugunsten der zuckerhaltigen) sammelt sich merkbar erst mit der Zeit an.

Indem ich die Frage, wodurch der Reduktionsgang in den Versuchen mit Saft erklärt wird, vorläufig beiseite lasse, kehre ich zu den Versuchen mit Trockenhefe zurück. Die Reduktionsverdoppelung, die hier für die zuckerhaltige Portion beobachtet wird, erklärt sich, meiner Ansicht nach, dadurch, daß die Trockenhefe keine freien Phosphate enthält — dieselben befinden sich in gebundener Form als Hexosephosphate. Unter diesen Bedingungen muß die Zugabe von Zucker, wie bekannt, in der zuckerhaltigen Portion eine Verdoppelung der Gärung gegen die zuckerlose¹⁾ hervorrufen — dieselbe Regelmäßigkeit.

Falls diese Erklärung als richtig erscheint, so wird sie als wichtiges Argument zugunsten des Satzes dienen, daß die Reduktionsreaktion nicht auf Kosten des Hexosephosphats verläuft (in diesem Falle würde keine Verdoppelung der Reduktion in der zuckerhaltigen Portion stattfinden können), sondern auf Kosten jener phosphororganischen Verbindung, die durch primäres Zusammenfügen der Hexose und Phosphate im Anfangsmoment der Gärung entsteht. Eine solche phosphororganische

¹⁾ Harden und Joung, diese Zeitschr. 40, 1912.

Verbindung muß sich in der zuckerhaltigen Portion unter genannten Bedingungen in jedem gegebenen Moment doppelt so stark bilden, als in der zuckerlosen. Dieser Regelmäßigkeit folgend, erhöht auch die Reduktase ihr Arbeitstempo aufs Doppelte. Falls aber die Reduktase mit dieser primären phosphororganischen Verbindung etwas zu tun hat, so bearbeitet sie selbstverständlich dieselbe, indem sie wahrscheinlich das in ihr enthaltene Hexosemolekül für oxydierte und reduzierte Gruppen (CO_2 und Alkohol) vorbereitet.

Zusammenfassung.

1. Zwei Moleküle PO_4 , in das Gärungsmedium eingetragen (in Gegenwart von Zucker), rufen eine Reduktion eines überschüssigen Mol. Methylenblau hervor.

2. Folglich verläuft der Reduktionsprozeß unter Teilnahme der Phosphate, wahrscheinlich einer komplizierten phosphororganischen Verbindung (mit 2 PO_4 in ihrem Molekül).

3. Aus dem 1. Satze folgt, daß wir bei Entziehung von 2 Wasserstoffatomen aus dem Gärungsmedium mittels der Reduktase diese komplizierte phosphororganische Verbindung, die fähig ist, eine Reduktion hervorzurufen, in eine neue Form überführen, die nun nicht mehr imstande ist eine Reduktion zu bewirken.

4. Der von mir früher abgeleitete Satz, nach dem die Entziehung von 2 Wasserstoffatomen eine Herabsetzung der Ausbeute beider Gärungsprodukte um 2 Mol. (Proportion II) hervorruft, ist mittels der Phosphate mit den Gleichungen Hardens und Jouns verbunden.

5. Noch unaufgeklärt bleibt die Frage, welche phosphororganischen Verbindungen sich das Reduktionsagens aneignet, die unbekannten primären, die vor der Spaltung der Hexose in Alkohol und CO_2 im Gärungsmedium entstehen, oder die sekundären (Hexosephosphat).

6. Diese noch offene Frage ist von großer Bedeutung für die Erkenntnis der Beziehung zwischen der Zymase und Reduktase.

7. Zugabe von Zucker, in Versuchen mit Trockenhefe, ruft gewöhnlich in den ersten Stunden eine Verdoppelung der Reduktion hervor, was in den Versuchen mit Macerationssaft nicht beobachtet wird.

8. Dieser Umstand findet seine wahrscheinliche Erklärung in dem Reichtum des Macerationssaftes an freien Phosphaten und in der Abwesenheit derselben bei der Trockenhefe.

9. Wenn sich diese Erklärung bestätigt, so dient sie als wichtiges Argument zugunsten der Lösung des oben formulierten Dilemmas im ersten Sinne, und dann ist es nötig, anzunehmen, daß die Reduktase als eine Grundlage der alkoholischen Gärung erscheint und einen Zentralfaktor des Gärungsapparates bildet.

10. Für die Reduktion wie auch für die Gärung ist die Teilnahme zweier Faktoren nötig, die man durch Dialyse oder Waschen des Hefepräparates trennen kann.

11. Der von mir früher aufgestellte Satz, laut welchem die Reduktion eines Mol. Methylenblau unter den Bedingungen der Selbstgärung das Erscheinen eines überschüssigen Moleküls CO_2 (Proportion I) hervorruft, steht in keiner Beziehung zur Zersetzung der Aminosäuren.

12. Die Stimulation in der CO_2 -Ausbeute kann, laut dieser Proportion, auch in Gegenwart von Zucker beobachtet werden, indem sie mit der Anfangsphase der Gärung übereinstimmt.

13. Diese Anfangsperiode der Stimulation kann bei verschiedenen Hefepräparaten von verschiedener Dauer sein, wobei sie manchmal wahrscheinlich bis zur minimalsten Grenze reicht.

14. Die Proportionen I wie auch II stehen mit der Zuckerverarbeitung im Gärungsmedium im Zusammenhang.

Die Untersuchung der mit diesen von mir formulierten Proportionen verbundenen Fragen wird weitergeführt.

Die alkoholische Gärung höherer Pflanzen.

Von

A. R. Minenkov.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Moskauer landwirtschaftlichen Instituts.)

(Eingegangen am 26. Juni 1914.)

Mit 6 Figuren im Text.

Die Untersuchungen über die Alkoholgärung bei Pflanzen beginnen unmittelbar nach dem Bekanntwerden von Pasteurs berühmter Theorie der physiologischen Gärungen. Als bald wird die Bildung von CO_2 im O_2 -freien Raum durch verschiedene Früchte und Pflanzenblätter konstatiert und die Annahme gemacht, es handle sich hier um eine Alkoholgärung [Lechartier und Bellamy¹⁾, M. Bérard²⁾, Pasteur³⁾, Moisson⁴⁾, Müntz⁵⁾, Pfeffer⁶⁾, Wortmann⁷⁾]. Diese Vermutung sollte sich ziemlich rasch als unumstößliche Tatsache bewahrheiten.

Im Jahre 1886 führte N. W. Diakonow⁸⁾ eine Untersuchung mit Schimmelpilzen im sauerstofffreien Medium bei verschiedenen Ernährungsquellen aus. Er kam dabei zu der Überzeugung, daß nur Glucose zur Unterhaltung intramolekularer Atmung aerober Organismen in Betracht käme und daß dieser letztere Prozeß nichts anderes als eine Alkoholgärung wäre. Zur gleichen Schlußfolgerung gelangte auch auf anderem Wege W. Palladin⁹⁾, und schließlich stellten Godlewski und Pol-

¹⁾ Lechartier und Bellamy, Compt. rend. 69, 1869; 75, 1872.

²⁾ Compt. rend. 75, 788, 1872.

³⁾ Pasteur, Compt. rend. 75, 1872.

⁴⁾ Moisson, Annales de Sc. Nat. S. 6, 7, 335, 1879.

⁵⁾ Müntz, Annales de chim. et de phys. 5, 8, 1876.

⁶⁾ Pfeffer, Landw. Jahrb. 7, 1878.

⁷⁾ Wortmann, Arb. d. botan. Inst. in Würzburg 2, 1882.

⁸⁾ Diakonow, Ber. d. Deutschen botan. Ges. 4, 1886.

⁹⁾ W. Palladin, Bedeutung des Sauerstoffs von Pflanzen 1886 (russisch).

zenius¹⁾ quantitative Bilanzen der anaeroben Atmung auf, denen zufolge die intramolekulare Atmung der Erbsensamen sich einfach in einem Zerfall der Kohlenhydrate in Alkohol und Kohlendioxyd äußert. In weiteren Arbeiten wird dies an verschiedenen pflanzlichen Organen seitens Goldewski, Nabokich, Stoklasa, Witek und Kostytschew usw. bestätigt. Wir dürfen es also als erwiesen annehmen, daß eine Alkoholgärung in Samen, Wurzeln, Stengeln, Blättern, Früchten, ja selbst in den Blumen verschiedener Pflanzen vor sich gehen kann, sobald dieselben in einen sauerstofffreien Raum gebracht werden, vorausgesetzt, daß in den betreffenden Objekten Gärungsmaterial vorhanden ist. Sind also verschiedene höhere Pflanzen zur alkoholischen Gärung befähigt, so besteht logisch die Voraussetzung zu Recht, daß dieselben Zymase enthalten, eine Annahme, die auch alsbald experimentell bewiesen wurde.

So wurde in mehreren Arbeiten zuerst von Stoklasa²⁾ und dessen Schülern gezeigt, daß aus verschiedenen Pflanzen sowohl unter normalen Atmungsverhältnissen als auch bei Abwesenheit von Sauerstoff Zymase extrahiert werden kann. Im Jahre 1906 wiesen dann Palladin und Kostytschew³⁾ die Gegenwart von Zymase durch Erfrieren von abgetöteten pflanzlichen Bestandteilen, die sich vor dem Erfrieren unter guten aeroben Verhältnissen befunden hatten, nach. Dieselben Forscher erbrachten den Beweis für die Unabhängigkeit der Zymaseaktivität vom Luftsauerstoff.

Da die Tätigkeit der Zymase der Pflanzen nicht vom Sauerstoff abhängt, so kann man erwarten, daß die Alkoholgärung höherer Pflanzen auch bei Sauerstoffzutritt möglich sei.

Wir haben jetzt schon von vielen Tatsachen Kenntnis, die eine solche Vermutung bestätigen.

Schon im Jahre 1876 beobachtete Pasteur⁴⁾ bei Pflanzen Alkoholbildung unter normalem Luftzutritt. Mazé⁵⁾ konstatiert Alkoholbildung bei Erbsensamen bei gehindertem Luftzutritt; er findet Alkohol in zweitägigen Keimlingen, die unter normalen Verhältnissen gewachsen waren. Mazé zeigte ferner, daß Weintraubenlaub normaliter Alkohol enthält, und zwar in einer Menge von 50 bis 100 mg Alkohol in 35 g Blättern. Ein derartiges Schwanken in der Alkoholmenge deutet Mazé als Folge der atmosphärischen Einflüsse.

Nach Berthelots⁶⁾ Versuchen enthalten die Blätter von Roggen und Ricinus, deren Wachstum ohne Störung vor sich gegangen ist, eine

¹⁾ Goldewski und Polzenius, Bull. de l'Acad. de Cracovie 1897, 267 und 1901, 227.

²⁾ Stoklasa, Ber. d. Deutschen botan. Ges. 1904, Heft 7.

³⁾ Palladin und Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 214, 1906.

⁴⁾ Pasteur, Études sur la bière 260, 1876.

⁵⁾ Mazé, Compt. rend. 128, 1608, 1899.

⁶⁾ Berthelot, Compt. rend. 128, 1366, 1899.

geringe Alkoholmenge. Devaux¹⁾ konnte gleichfalls in verschiedenen Baumblättern, die einige Zeit einer Temperatur von 35° ausgesetzt worden waren, die Gegenwart von Alkohol und zugleich einen wesentlich gesteigerten Atmungskoeffizienten feststellen. Seine Untersuchungsobjekte waren stets von Luft umgeben, so daß von einem Sauerstoffmangel nicht die Rede sein kann. Demselben Forscher zufolge weisen die Blätter von *Ficus carica* unter normalen Bedingungen und bei gewöhnlicher Temperatur Alkohol auf.

Im Jahre 1901 deckte Polowzow²⁾ die Abhängigkeit der Atmungskoeffizienten der keimenden Pflanzen von der Art der Ernährung auf. Die sehr hohen Koeffizienten, die an solche bei Vergärung erinnerten, und der Nachweis von qualitativer Alkoholbildung im Samen von Mais, Erbsen und den Endospermen des Maises bei Zutritt von Sauerstoff zwangen ihn zu den folgenden Schlußfolgerungen:

„Alkoholgärung tritt bei höheren Pflanzen ebenso wie bei Hefe auf, nicht nur in Abwesenheit von O₂, sondern auch bei reichlichem Zutritt desselben. Hervorrufen und entdecken läßt sich diese Gärung unter folgenden Bedingungen:

a) Der zu untersuchende Komplex lebender Zellen, sei es ein Organ höherer Pflanzen oder eine Pilzhyphe, muß reichlich mit Zucker versehen sein;

b) Wachstumserscheinungen müssen verlangsamt oder ganz gehemmt werden.

Daß in höheren Pflanzen alkoholische Gärung bei Anwesenheit von Sauerstoff und gärungsfähigem Zucker stattfindet, erweisen gleichfalls Versuche von Ljubimenko³⁾, der den Einfluß von Zuckerarten auf $\frac{CO_2}{O_2}$ bei der Keimung von *Pinus Pinea* studierte.

Noch kürzlich beobachtete auch Kostytschew⁴⁾ Alkoholbildung in Erbsensamen bei vollkommen einwandfreier Aeration; er erklärt die Alkoholbildung unter solchen Umständen durch die vorhandene Schale, die dem Sauerstoff den Zutritt zu den wachsenden Samenteilchen beschränkt, da in seinen Versuchen schalenlose Samen nicht nur keinen Alkohol bildeten, sondern solchen sogar konsumierten. Derartigem Alkoholverbrauch von Schalen ohne Hüllen begegnet man in den Untersuchungen, die Palladin⁵⁾ im Verein mit Kostytschew ausführte, nicht. So bildeten in 29 Versuchen die Erbsensamen, die von der Schale befreit waren, im Laufe von 24 Stunden Alkohol bei guter Aerierung;

¹⁾ Henri Devaux, Compt. rend. 128, 1346, 1899.

²⁾ W. Polowzow, Memoiren d. Kaiserl. (russ.) Akad. d. Wiss. VIII. Serie, 12, Nr. 7.

³⁾ W. Ljubimenko, Compt. rend. 143, 130, 1906.

⁴⁾ S. Kostytschew, Physiologische Untersuchungen über die Atmung der Pflanzen 1910 (russisch).

⁵⁾ Palladin, Memoiren d. Kais. (russ.) Akad. d. Wiss. VIII. Serie, 20, Nr. 5, 1907.

hier kam es zu keinem Konsum, sondern zu einer Anhäufung von Alkohol, und das Verhältnis von Kohlendioxyd zum Alkohol gestaltete sich:

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 16,6.$$

Demnach hat sich bisher ziemlich viel Material angesammelt, das die Möglichkeit einer Alkoholbildung durch höhere Pflanzen bei vollem Luftzutritt beweist. Jetzt aber wird von vielen, wenn auch freilich nicht von allen Forschern behauptet, Pflanzen bilden Alkohol nur bei Abwesenheit von Sauerstoff,

Diese meine Arbeit soll einige Tatsachen hinsichtlich der Alkoholbildung bei Aeration liefern. Und zwar stellte ich es mir auf Anraten von Prof. N. N. Chudjakow zur speziellen Aufgabe, den Einfluß von Temperatur und osmotischen Druck auf die alkoholische Gärung bei höheren Pflanzen zu verfolgen. Als Versuchsobjekte wählte ich Samen von *Vicia Faba*; durchweg wurde unter streng aseptischen Kautelen gearbeitet.

Daß ich Reinkulturen nahm, bedarf hier keiner Rechtfertigung nach den überzeugenden Untersuchungen von Polowzow¹⁾ und Nabokich²⁾, die erwiesen, wie stark der Verlauf des Gaswechsels bei keimenden Samen durch Mikroorganismen modifiziert wird.

Die Sterilisierung der Samen erfolgte nach der Methode von N. N. Chudjakow; als Antisepticum diente stets 1 %ige alkoholische Sublimatlösung. Alle Einzelheiten sämtlicher bei der Sterilisation notwendiger Manipulationen beabsichtige ich nicht hier wiederzugeben. Dies ist seitens Petrow³⁾ und Schulow⁴⁾ bereits geschehen. Nur will ich darauf hinweisen, daß Sublimat auf die Samen 45 Minuten lang folgendermaßen einwirkte: nach Eintauchen der Samen während 15 Minuten entfernte ich das Sublimat und wusch sie sofort rasch dreimal mit sterilem Wasser, wonach sie wieder 15 Minuten lang mit Sublimat in Berührung blieben usw., ich wiederhole diesen Prozeß dreimal.

¹⁾ Polowzow, Memoiren d. Kais. Akad. d. Wiss. VIII. Serie, 12, Nr. 7, 1901 (rus.).

²⁾ Nabokich, Berichte d. Botan. Gesellschaft. 21, 1903.

³⁾ G. G. Petrow, Nachrichten d. Mosk. Landwirtschaftl. Instituts 1911, 141 (russ.).

⁴⁾ J. S. Schulow, Untersuchungen im Gebiete der Ernährungsphysiologie usw. 1913 (russ.).

Das endgültige Auswaschen der Samen mit keimfreiem Wasser vollzog sich im Laufe von drei Stunden, was durchaus genügt, um sämtliches Sublimat zu entfernen.

Die bei den Versuchen benutzten Gefäße besaßen Kegelform (s. Fig. 1); eine solche wurde gewählt, weil sie die Lüftung der Samen im Wasser oder sonst irgendwelchem Substrat am vollkommensten gestattet. Das mit Glasperlen beschickte Gefäß stand mit seinem ausgezogenen Ende durch Kautschuk mit einer Glasröhre in Verbindung. Unweit vom Auslauf des Rohrs war dasselbe unter einem Winkel gebogen und leicht verengt; hierselbst wurde es nach Schluß des Versuches abgebrochen. Die Probenahme erfolgte mittels Platindraht und unter strenger Befolgung aller die Sterilität verbürgenden Vorsichtsmaßregeln. Das Ende jener Glasröhre wurde mittels kurzen Kautschukschlauch mit einem Wattefilter (a) verbunden. Ein anderes gleiches Filter (b) wurde auf den Tubus der T-förmigen Glasröhre gestülpt, deren Ende mittels Kautschuk mit dem Versuchsgefäß (B) kommunizierte — das andere mit dem Samenbehälter (c), woselbst die Samen vor der Sterilisierung liegen; die obere Öffnung dieses letzteren Gefäßes wurde mit Watte verstopft. Die Menge des Wassers oder eines anderen Substrates betrug in meinen Gefäßen stets 300 ccm.

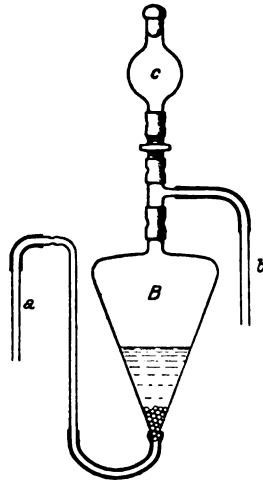


Fig. 1.

Dergestalt wurden die Gefäße im strömenden Dampf bei 100° dreimal alle 24 Stunden eine Stunde lang sterilisiert.

Vor Beginn der Sterilisierung der Samen wurden das obere und untere Gefäß durch eine Schraubenklemme isoliert, der Wattestopfen des oberen Gefäßes entfernt, die Samen eingeschüttet und sofort auf das obere Gefäßende der Sterilisator nach Chudjakow aufgesteckt. Hierauf fing das Sterilisieren der Samen an.

Die sterilisierten und ausgewaschenen Samen wurden in das Versuchsgefäß mittels des Kautschukrohrs, das letzteres

Gefäß mit dem Sterilisierapparat verband, übergeführt. Darauf wurde dieses Kautschukrohr wiederum mit einer Klemme geschlossen, der obere Apparat entfernt. Somit ist das Versuchsgefäß zur Anstellung dieses oder jenes Versuchs fertig. Samen und Keimlinge befanden sich während des Versuchs immer in flüssiger Umgebung. Die Außenluft gelangte, nachdem sie vom atmosphärischen Kohlendioxyd durch Kalilauge gereinigt war, durch das Wattefilter von unten ins Gefäß hinein, und nach Berührung mit den Glasperlen durch einen gleichen Filter nach außen. Der Luftstrom zerstäubte sich in feine Bläschen, wodurch bessere Lüftung erreicht wurde. Die Geschwindigkeit des Luftstromes betrug 2,5 l pro Stunde. Die Luft wurde aus den Gefäßen von 1000 l Inhalt durch Vakuum ausgesaugt. Die aus den Pflanzen kommende Kohlensäure wurde in allen Versuchen erst, nachdem eine Stunde lang Luft durch die Gefäße getrieben worden war, aufgefangen. Dies geschah mit einer Lösung von Bariumhydroxyd, von welchem ein bestimmtes Volumquantum in zwei Drechselsche Waschflaschen gegossen wurde; die eine der beiden diente zum Zurückhalten von CO_2 -Spuren. Von Zeit zu Zeit wurde das restierende freie Bariumhydroxyd in der ersten Waschflasche durch Titration mit $\frac{1}{2}$ n-Schwefelsäure ermittelt, in der zweiten Waschflasche das Barium abtitriert, sobald der Versuch zu Ende geführt war. Da der Alkohol sich verflüchtigen konnte, so wurde zum Vermeiden von Verlusten eine große Drechselsche Waschflasche mit Wasser zwischen das Versuchsgefäß und die Waschflaschen mit Baryt aufgestellt. Spuren von Alkohol wurden zum Teil auch vom Barytwasser aufgefangen, weshalb nach jeder Titration die Lösung gesammelt wurde; als Indikator beim Titrieren diente Phenolphthalein in Pulverform, aber nicht in Alkohollösung.

Nach Abschluß des Versuches gelangte der ganze Inhalt des Versuchsgefäßes in ein Destillationsgefäß, in das auch der gesammelte Baryt und das Wasser aus der Drechselschen Waschflasche für Alkohol gegossen wurde. Da außer Alkohol auch noch andere Ingredienzien, die die Bestimmung des spezifischen Gewichts der wässerigen Alkohollösung erschweren, mitabgetrieben werden, so mußte man die letzteren entfernen. Zu diesem Behufe verfuhr ich nach der Vorschrift von

N. N. Chudjakow¹⁾. Das erste Destillat wurde fünf Minuten lang bei Gefriertemperatur einer Oxydation durch KMnO_4 unterworfen, wonach eine gesättigte Lösung von Oxalsäure bis zur Entfärbung der Lösung hinzugegossen und sodann das erste Destillat zum zweitenmal abdestilliert wurde. Zum zweiten Destillat wurde NaOH hinzugefügt und aufs neue abgetrieben. Davon wurden immer 100 ccm gesammelt. Die Berechnung des Alkohols in letzterem Destillat geschah durch Bestimmung des spezifischen Gewichtes mittels einer Westphalschen Wage bei $15,5^\circ \text{C}$.

Versuch 1.

Aufgestellt wurden zwei Gefäße mit 45 g sterilisiertem Samen von *Vicia Faba*; das eine Gefäß enthielt 300 ccm Wasser, das andere 300 ccm 15,8 %iger Glucoselösung. Temperatur 19°C .

Bestimmung des Kohlendioxyds

Dauer des Versuchs in Stunden	Wasser		Glucose	
	CO_2 -Menge mg	CO_2 auf 100 g Samen pro Stunde	CO_2 -Menge mg	CO_2 auf 100 g Samen pro Stunde
45	313,39	15,48	431,18	21,29
48	338,95	15,69	574,54	26,59
48	356,73	16,51	525,09	24,30
24	217,81	20,16	270,05	25,00
	Binnen 165 Std. in zwei Drechselsche Fl. aufgef. CO_2 52,23		Binnen 165 Std. in zwei Drechselsche Fl. aufgef. CO_2 74,35	
165 Stunden	1279,11		1875,21	

Alkoholbestimmung.

Gefäß mit Wasser $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 630 \text{ mg}$,

" " Glucose $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1500 \text{ mg}$.

Somit bildeten sich im mit Wasser gefüllten Gefäß binnen 165 Stunden 1279,11 mg CO_2 und 630 mg $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 52.$$

Im Gefäß mit Glucose entwickelten sich im gleichen Zeitraum 1875,21 mg CO_2 und 1500 mg $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 83.$$

Im Wasser keimten die Samen sehr gut; die Wurzellänge erreichte ca. 1,5 ccm. Die Flüssigkeit wurde rasch gelb und sah am Ende des

¹⁾ N. N. Chudjakow, „Die Fermente und das Protoplasma“. Nachrichten aus dem Mosk. Landwirtschaftl. Instituts 1905 (russ.).

Versuches wie starker Tee aus. Im Gefäß mit Glucose konnte man an den Samen am Tage vor Abschluß des Versuches kaum Wurzeln bemerken. Im Versuch war vollständige Sterilität gewahrt worden.

Versuch 2.

Es wurden 3 Gefäße mit sterilisiertem Samen von *Vicia Faba* angesetzt; Gewicht der Samen in jedem der Gefäße 45 g; ein Gefäß enthielt Wasser, das andere 6%ige Na_2SO_4 und ein drittes 7,8%ige Glycerinlösung. Die Na_2SO_4 - und $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$ -Lösungen waren ungefähr isosmotisch mit einem Druck von 20 Atmosphären. Mittlere Temperatur 22°.

Bestimmung des Kohlendioxyds.

Dauer des Versuchs Std.	Wasser		6% Na_2SO_4		7,8% $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$	
	CO_2 -Menge	CO_2 -Menge auf 100 g Samen pro Std.	CO_2 -Menge	CO_2 -Menge auf 100 g Samen pro Std.	CO_2 -Menge	CO_2 -Menge auf 100 g Samen pro Std.
	mg		mg		mg	
41	356,62	19,32	330,05	17,35	207,81	11,26
48	524,53	24,28	461,18	21,35	318,94	14,76
48	657,89	30,45	562,86	26,06	354,50	16,41
28	336,72	26,72	291,16	23,11	264,49	20,95
	CO_2 binnen 165 Std. in zwei Drechselsche Fl. 80,02		CO_2 binnen 165 Std. in zwei Drechselsche Fl. 55,57		CO_2 binnen 165 Std. in zwei Drechselsche Fl. 60,01	
165	1955,78		1690,82		1205,75	

Alkoholbestimmung.

	Wasser	Na_2SO_4	$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$
$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} =$	1,25 g	1,44 g	0,84 g
$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} =$	100 : 64	100 : 85	100 : 70

In der Na_2SO_4 -Lösung war die Keimung der Samen sehr gering; im Wasser erfolgte gutes Keimen, die Wurzeln erreichten eine Größe von über 1 cm; im Glycerin kam auch Keimung zustande, doch waren die Wurzeln bedeutend kleiner als im Wasser. Auch in diesem Versuch näherte sich bei starker Wachstumsbemmung das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ wesentlich demjenigen, das bei rein alkoholischer Gärung beobachtet wird. Hier trat auch die Einwirkung des Glycerins zutage, die während der ersten Momente Plasmolyse hervorruft: ein vorübergehender Prozeß, bedingt durch das Eindringen von Glycerin in die Zellen. Das Glycerin verursachte eine Verzögerung im Wachstum, jedoch nicht in dem Grade wie Na_2SO_4 , aus welchem Grunde auch das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ in dem einen und anderen Fall wesentlich voneinander verschieden war. Der Versuch verlief steril.

Versuch 3.

Benutzt wurden zwei Gefäße mit ebensolchen Samen und in ebenselben Menge pro Gefäß wie in den vorigen Versuchen. In einem Gefäß befand sich Wasser, im anderen 3,26%ige NaCl-Lösung. Das Volumen des Wassers und des Salzes betrug je 300 ccm. Mittlere Temperatur während der ganzen Dauer des Versuches 24°.

Bestimmung des Kohlendioxyds.

Dauer d. Ver- suchs Std.	Wasser		NaCl	
	CO ₂ -Menge mg	CO ₂ auf 100 g Samen pro Std.	CO ₂ -Menge mg	CO ₂ auf 100 g Samen pro Std.
45	397,80	21,56	285,50	15,47
48	594,44	27,52	305,65	14,14
48	622,18	28,80	302,88	14,00
24	366,56	33,93	139,22	12,89
	CO ₂ binnen 165 Std. i. 2 Drechselsche Fl. 141,40		CO ₂ binnen 165 Std. i. 2 Drechselsche Fl. 27,19	
165	2122,36		1059,94	

Alkoholbestimmung.

Kolben mit Wasser C₂H₅OH = 1500 mg,

" " NaCl C₂H₅OH = 1010 "

Somit bildeten sich im Wasser in 165 Stunden 2122,39 mg CO₂ und 1500 mg C₂H₅OH, CO₂:C₂H₅OH = 100:70. In der NaCl-Lösung bildeten sich gleichzeitig 1059,94 mg CO₂ und 1010 mg C₂H₅OH. CO₂:C₂H₅OH = 100:95.

Im Wasser waren Wachstum und Keimung normal, die Wurzeln über 1 cm lang. In der NaCl-Lösung war gar keine Keimung vor sich gegangen, hier lag starke Wachstumshemmung vor und das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ näherte sich noch mehr dem rein alkoholischen. Der Versuch wurde unter sterilen Vorsichtsmaßregeln ausgeführt.

Versuch 4.

In einem der zwei benutzten Kolben war Wasser, im anderen 7,25%ige K₂HPO₄-Lösung. In jedes Gefäß wurden 45 g Samen von Vicia Faba gebracht. Dauer des Versuchs: 165 Stunden. Mittlere Temperatur 26°. Menge von Kohlendioxyd während der ganzen Versuchsdauer:

Wasser: CO₂ = 2413,38 mg,

K₂HPO₄: CO₂ = 1199,8 "

Alkoholmenge.

Wasser: C₂H₅OH = 1750 mg,

K₂HPO₄: C₂H₅OH = 1000 "

Im Wasser keimten die Samen; das Verhältnis von Kohlendioxyd zum Alkohol war:

CO₂:C₂H₅OH = 100:72.

Die Wachstumsverzögerung unter dem Einfluß von K_2HPO_4 war so stark, daß die Samen nicht keimten. Wir bemerken hier wiederum bedeutendes Vorherrschen der alkoholischen Gärung vor den oxydierenden Prozessen, was sich in dem Verhältnis ausdrückt: $CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 84$.

Aus allen diesen 4 Versuchen läßt sich folgern, daß starke Entwicklungshemmung, bedingt durch osmotischen Druck sowohl organischer Stoffe ($C_6H_{12}O_6$, $C_3H_8O_3$) als auch anorganischer (Na_2SO_4NaCl , K_2HPO_4), auf die alkoholische Gärung der Samen von *Vicia Faba* bei Luftzutritt günstig einwirkt. Das Verhältnis von $\frac{CO_2}{C_2H_5OH}$ nähert sich sehr stark demjenigen, das während der rein alkoholischen Gärung ermittelt wird; Oxydationsprozesse werden unterdrückt.

Betrachten wir vergleichend die Werte aus den Wassergefäßen, so kommt noch der Einfluß eines anderen Faktors beim Auftreten alkoholischer Gärung in Samen von *Vicia Faba* bei Luftzutritt zur Geltung. Dieser Faktor ist die Temperatur.

Versuch 1: 19^0 , $CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 52$,
 " 2: 22^0 , $CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 64$,
 " 3: 24^0 , $CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 70$,
 " 4: 26^0 , $CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 72$.

Hier erkennt man wieder den Zusammenhang zwischen Pflanzenwachstum und alkoholischer Gärung. Mit gesteigerter Temperatur verlangsamt sich das Wachstum, und das Verhältnis $\frac{CO_2}{C_2H_5OH}$ ändert sich zugunsten der Alkoholgärung. Die Temperatur im Laboratorium wurde eine höhere zufolge der allgemeinen Erwärmung der Luft im Frühling und darauf im Sommer. Selbstverständlich mußte auf diese Schwankungen geachtet werden. Ich notierte in jedem Einzelfall die mittlere Temperatur während der Versuchsdauer.

Im Herbst 1913 beschäftigte ich mich speziell mit dem Studium des Temperatureinflusses auf die Alkoholgärung der Pflanzen bei Luftzutritt. Die Gefäße mit sterilisierten Samen wurden während des ganzen Versuchs in den Thermostaten bei dieser oder jener konstanten Temperatur gestellt.

Versuch 5.

100 g Samen von *Vicia Faba* wurden in einem Gefäß mit 300 cm Wasser bei niedriger Temperatur in den Brutschrank gestellt. Der Versuch dauerte 165 Stunden. Die Temperatur schwankte zwischen 0^0 bis 40^0 . Verlauf steril.

Entwickelte Kohlendioxydmenge aus den Samen während der ganzen Versuchszeit: $\text{CO}_2 = 522,31 \text{ mg.}$ Menge des gebildeten Alkohols $= 470 \text{ mg.}$
 $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 90.$

Am Ende des Versuchs zeigten sich in manchen Samen winzige Würzelchen. Die niedrige Temperatur verzögerte das Wachstum erheblich, und aus dem Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ geht hervor, daß in diesem Falle beinahe reine alkoholische Gärung vor sich ging.

Versuch 6.

45 g sterilisierte Samen von *Vicia Faba*. Ein Gefäß mit Samen wurde in den Thermostaten gestellt, wo die ganze Zeit über eine Temperatur von 9° herrschte. Im Gefäße waren 300 ccm Wasser. Dauer des Versuchs: 165 Stunden.

Bestimmung des Kohlendioxyds.

Während 165 Stunden $\text{CO}_2 = 540,3 \text{ mg.}$

Alkoholbestimmung.

Während 165 Stunden $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 420 \text{ mg.}$

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 77.$

Die Samen keimten gut, und die Wurzeln waren bedeutend größer als in Versuch 5.

Hier war die Wachstumshemmung nicht so ausgeprägt wie im vorhergehenden Falle, und folglich tritt die alkoholische Gärung wesentlich im Vergleich zu dem Oxydationsprozeß zurück. Versuch steril verlaufen.

Versuch 7.

Versuchsgefäß mit Samen von *Vicia Faba* und 300 ccm Wasser im Thermostaten bei 14° . Samengewicht: 45 g. Der Versuch dauerte 165 Stunden und verlief steril.

Bestimmung des Kohlendioxyds.

Während 165 Stunden $\text{CO}_2 = 992,4 \text{ mg.}$

Alkoholbestimmung.

Während 165 Stunden $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 630 \text{ mg.}$

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 63,6.$

In diesem Versuche ist die Verzögerung im Wachstum geringer als im Versuch 6. Die Samen keimten gut, und die Wurzeln waren länger als im vorhergehenden Falle. Die Alkoholgärung hat wieder im Vergleich zur Oxydation abgenommen.

Versuch 8.

Ebensolches Gefäß und gleiches Samenquantum von *Vicia Faba* wird in den Brutschrank gestellt. Temperatur: 21° . Dauer des Versuchs: 165 Stunden.

Bestimmung des Kohlendioxyds.

Während 165 Stunden $\text{CO}_2 = 2003,6 \text{ mg.}$

Alkoholbestimmung.

Während 165 Stunden $C_2H_5OH = 1120$ mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 56$.

Samen keimten gut, auch war das Wachstum befriedigend; die Würzelchen erreichten 1,5 cm Länge. In diesem Falle war das Wachstum noch weniger gehemmt als im vorigen Versuch. Wir sehen wieder bedeutende Verminderung der alkoholischen Gärung im Verhältnis zu den Oxydationsprozessen. Steriler Verlauf.

Versuch 9.

Kolben mit sterilisierten Samen von *Vicia Faba* wird 165 Stunden im Thermostaten bei 32° belassen. Gewicht der Samen: 45 g. Im Gefäße befinden sich 300 ccm Wasser. Verlauf steril.

Kohlendioxydentwicklung.

Während 160 Stunden $CO_2 = 3009$ mg.

Alkoholentwicklung.

Während 160 Stunden $C_2H_5OH = 2720$ mg.

Hier erfolgte Unterdrückung des Wachstums. Die Samen keimten zwar, jedoch blieben die Wurzeln kurz. Das Verhältnis des Kohlendioxyds zum Alkohol war:

$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 90,6$.

Versuch 10.

Gefäß mit 45 g Samen von *Vicia Faba* steht im Thermostaten bei 38°. Im Gefäß befanden sich 300 ccm Wasser. Dauer des Versuchs: 165 Stunden.

Bestimmung des Kohlendioxyds.

Während 165 Stunden $CO_2 = 2295$ mg.

Alkoholbestimmung.

Während 165 Stunden $C_2H_5OH = 2060$ mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 93$.

Die Samen keimten überhaupt nicht; die Größe der Oxydationsprozesse war in diesem Falle unbedeutend, und das Verhältnis $\frac{CO_2}{C_2H_5OH}$ lehrt, daß hier fast reine Alkoholgärung stattgefunden hatte. Versuch verlief steril.

Veränderung von $\frac{CO_2}{C_2H_5OH}$ unter Temperatureinfluß.

Temperatur °C	$\frac{CO_2}{C_2H_5OH}$	Verhalten des Wachstums
0—4	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 90$	Starke Wachstumsverzögerung.
9	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 77$	Wachstum mehr vorgeschritten
14	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 63$	" gut "
21	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 56$	" sehr gut "
32	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 90$	Starke Verzögerung.
38	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 93$	Kein Wachstum.

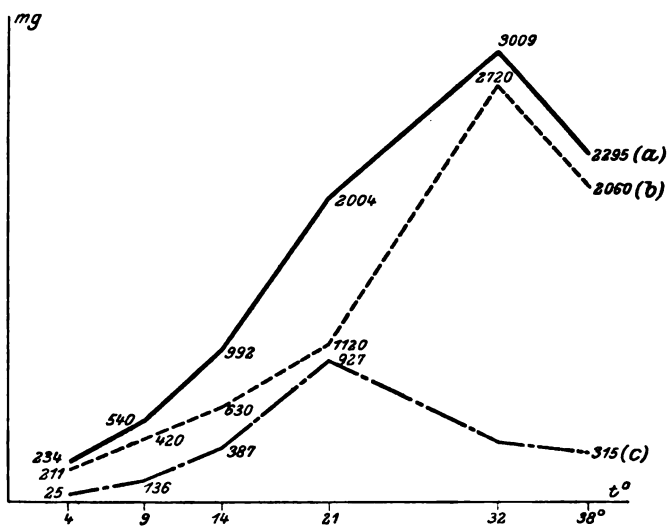


Fig. 2.

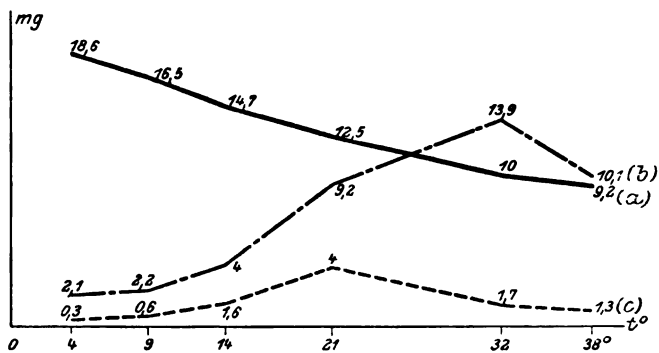


Fig. 3.

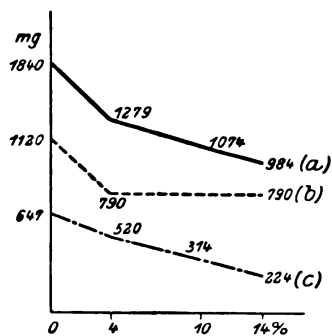


Fig. 4.

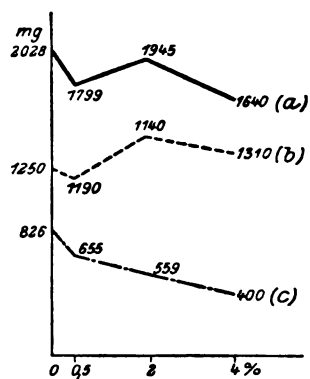


Fig. 5.

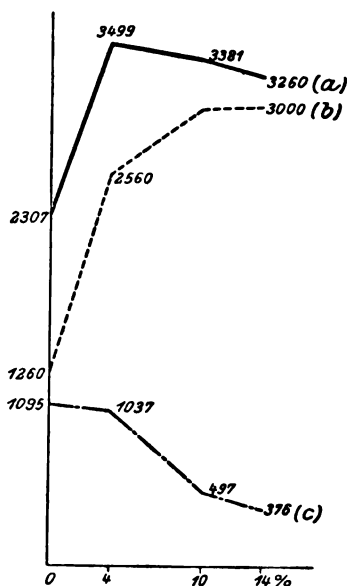


Fig. 6.

Auch wird der Zusammenhang von Wachstum und Alkoholgärung aufs neue bestätigt. Wachstumshemmung, sowohl durch niedere als auch höhere Temperatur hervorgerufen, regt bei Luftzutritt bei *Vicia Faba* Alkoholgärung an. Diese Gärung herrscht besonders stark im Verhältnis zu Oxydationsprozessen bei sehr niederen oder ziemlich hohen Temperaturen vor, und in diesen Fällen nähert sich das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ ziemlich den bei reiner alkoholischen Gärung zu beobachtenden Werten.

Mit steigender Erwärmung nimmt die Alkoholgärung proportional ab und erreicht ihre relativ niedrigste Stufe bei solcher Temperatur, wenn das Wachstum am besten gediehen ist. Die Einwirkung auf die Alkoholgärung bei *Vicia Faba* läßt sich aus Fig. 2 ersehen.

Aus den ersten Versuchen geht hervor, welchen Einfluß auf die Alkoholgärung sehr starke Wachstumshemmung bei *Vicia Faba*, die durch osmotischen Druck verschiedener Stoffe hervorgerufen war, ausübt. Es erschien interessant, die Frage zu verfolgen, inwiefern denselben Vorgang verschiedene Grade von Wachstumsverzögerung bei wechselnden Konzentrationen der Nährlösung beeinflussen. Zur Aufklärung dieses Punktes stellte ich folgende Versuche an.

Versuch 11.

Zur Anwendung gelangten vier Versuchsgefäße mit sterilisierten Samen von *Vicia Faba*; Samenmenge in jedem Gefäß 45 g. In einem Gefäße befand sich Wasser und in den drei übrigen Glucoselösung in folgenden Konzentrationen: 4%, 10%, 14%. Der Versuch dauerte 165 Stunden. Mittlere Temperatur 21°.

Substrat	CO ₂ -Menge binnen 165 Std. mg	C ₂ H ₅ OH-Menge mg	CO ₂ : C ₂ H ₅ OH
Wasser	2307,08	1260	100 : 55
4% Glucose . . .	3467,50	2560	100 : 73
10% " . . .	3381,60	3000	100 : 88
14% " . . .	3260,90	3000	100 : 92

Das Samenwachstum im Wasser war sehr gut; in 4%iger Glucoselösung keimten die Samen zwar, jedoch waren die Keimlinge weniger vorgeschritten als im Wasser; in 10%iger Lösung blieb das Wachstum noch mehr zurück und in 14%iger Lösung bestand schließlich eine so bedeutende Wachstumshemmung, daß die Wurzeln kaum sichtbar waren.

Das Verhältnis von $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ nahm andere Werte an, und zwar wurden sie um so größer, je höher die Konzentration war, mit der auch parallel die stärkste Wachstumshemmung einher ging. Mit erhöhter Konzen-

tration wächst allmählich die Alkoholgärung im Verhältnis zu den Oxydationsprozessen und, endlich, bei sehr ausgesprochener Wachstumsverzögerung, bemerken wir wieder fast rein alkoholische Gärung. Die Energie der Kohlendioxydabgabe und der Alkoholbildung vergrößert sich unter dem Einfluß von Glucose, was auf eine Ausnutzung des Nährstoffes und auf Spaltung desselben in CO_2 und $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ hinweist. Die Befunde dieses Versuchs sind graphisch in Fig. 6 dargestellt. Steril verlaufen.

Versuch 12.

Angesetzt wurden vier Gefäße mit je 45 g sterilisierten Samen von *Vicia Faba*; ein Gefäß enthielt Wasser und drei Mannitlösung von folgender Konzentration: 4%, 10% und 14%. Dauer des Versuchs: 165 Stunden. Mittlere Temperatur: 22°.

Substrat	CO_2 -Menge binnen 165 Std. mg	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ -Menge mg	$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
Wasser	1840,0	1120	100 : 61
4% Mannit	1279,5	790	100 : 62
10% "	1073,9	790	100 : 73
14% "	983,6	790	100 : 81

Im Wasser war gutes Wachstum zu beobachten, in der Mannitlösung mangelhaftes. Mit erhöhter Konzentration ging es immer mehr zurück; das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ gestaltete sich allmählich zum Vorteil der Alkoholgärung. Der Versuch verlief steril. Die Befunde dieses Versuchs sind graphisch in Fig. 4 veranschaulicht.

Versuch 13.

Angesetzt wurden 4 Proben mit sterilisierten Samen von *Vicia Faba*. Die Samenmenge in jedem Gefäße betrug 45 g. Ein Gefäß wurde mit Wasser, die übrigen mit Hellriegelscher Nährmischung ohne Fe_2Cl_6 beschickt (damit kein Niederschlag dieses Gemisches entstehe). Die Konzentrationen der Nährmischung waren folgende: 0,5%, 2% und 4%. Dauer des Versuches 163 Stunden. Mittlere Temperatur 23°.

Substrat	CO_2 -Menge in 163 Std. mg	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ -Menge mg	$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
Wasser	2028,0	1250	100 : 61
0,5% } Hellriegelsche	1799,6	1190	100 : 66
2,0% } Mischung	1944,5	1440	100 : 74
4,0% }	1640,0	1310	100 : 80

Der Wachstumscharakter sowie die Veränderung des Verhältnisses $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ blieben die gleichen wie bei den beiden vorhergehenden Versuchen. Der Versuch verlief steril. Die Ergebnisse dieses Versuches verbildlicht Fig. 5.

Jetzt ein paar Worte betreffs der Lüftung. Da bei allen meinen Versuchen Samen und Keimlinge sich in Wasser oder in irgendeinem Nährsubstrat befanden, könnte man vermuten, meine Kulturen hätten Mangel an Sauerstoff gelitten. Wie aus dem weiteren erhellt, war Sauerstoff unter diesen Bedingungen so hinreichend vorhanden, daß derselbe nicht voll ausgenutzt wurde. Wir wollen bei dieser Kontrolle in einer Versuchsreihe, in der der Temperatureinfluß studiert wurde, berechnen, über welches Quantum Sauerstoff meine Kulturen verfügten und wieviel sie davon ausnutzten. Auf Fig. 3 ist dies graphisch dargestellt. Wir wissen, daß die Löslichkeit des Sauerstoffs im Wasser mit steigender Temperatur abnimmt. Nach Winklers¹⁾ Angaben lösen sich bei 4° in 300 ccm Wasser 18,6 mg Sauerstoff, bei 21° 12,5 mg, bei 38° nur 9,2 mg. Hätten meine Kulturen unter Sauerstoffmangel gelitten, so hätten die Ergebnisse, d. h. das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ bei der allerniedrigsten Temperatur wie bei allerhöchster, stark voneinander abweichen müssen, weil ein bedeutender Unterschied im Sauerstoffgehalt bestand. Obwohl hier eine geringe Differenz im Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ auch vorhanden war, hatten wir ja in beiden Fällen fast reine alkoholische Gärung. Andererseits hätten wir bei Mangel an Sauerstoff kein so schönes Wachstum zu verzeichnen, wie es bei 21° wirklich der Fall war. Ferner ergibt sich nach Berechnung²⁾ des zu den Oxydationsprozessen verbrauchten Sauerstoffs pro Stunde bei meinen Kulturen, daß letzteres Quantum wesentlich geringer ist als dasjenige, das sich in Lösung befand. So verbrauchten meine Kulturen von *Vicia Faba* im Laufe einer Stunde folgende Sauerstoffmengen: Bei 4° nur 0,3 mg, bei 21° 4 mg und bei 38° 1,3 mg. Unter der Voraussetzung, daß sämtliches Kohlendioxyd, das von den Pflanzen abgegeben wird, im gegebenen Falle ein Produkt von Oxydationsprozessen ist, sehen wir wieder bei Berechnung des dazu erforderlichen Sauerstoffs pro Stunde, daß dieses Quantum weniger beträgt als der im Wasser gelöste

¹⁾ Winkler. Vgl. die Landolt und Börnsteinschen Tabellen.

²⁾ Berechnet aus der Differenz (Totalmenge CO_2 — CO_2 der alkoholischen Gärung ist = CO_2 , aus Oxydationsprozessen hervorgegangen).

Sauerstoff. Z. B. bei 4° würden 2,2 mg, bei 21° 9,2 mg, bei 38° etwas über das Gelöste — 10,1 mg — Sauerstoff notwendig sein. Sobald wir dazu noch den konstant durch die Gefäße gehenden (2,5 l pro Stunde) Luftstrom berücksichtigen, können wir aus jener enormen Sauerstoffmenge, die von den Pflanzen unbenutzt blieb, schließen, daß wohl von einem Mangel an Sauerstoff unter den obwaltenden Bedingungen keine Rede sein kann.

Ich lieferte meinen Pflanzen gesteigerte Sauerstoffmengen, indem ich reinen Sauerstoff anstatt Luft durch die Gefäße strömen ließ. Diese Steigerung zeigte fast gar keine Einwirkung auf das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$, was aus folgenden Versuchen zu ersehen ist.

Versuch 14.

Eingestellt wurden 2 Proben mit je 45 g sterilisiertem Samen von *Vicia Faba*; in beiden Gefäßen befanden sich je 300 ccm Wasser. Durch ein Gefäß wurde die ganze Zeit hindurch Luft gepreßt und durch das andere reiner Sauerstoff. Der Versuch dauerte 165 Stunden. Mittlere Temperatur 25°. Verlauf steril. Kohlendioxydabgabe während 165 Stunden:

bei durchströmender Luft $\text{CO}_2 = 2221,3 \text{ mg}$,
 bei durchströmendem Sauerstoff . . $\text{CO}_2 = 3207,9 \text{ mg}$.

Alkoholbestimmung:

bei Luftstrom $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1250,0 \text{ mg}$,
 bei Sauerstoffstrom $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1870,0 \text{ mg}$.

Sowohl Keimung wie Wachstum waren in beiden Gefäßen gut vorgeschritten, nur stand in dem Gefäß mit Sauerstoff das Wachstum auf etwas niedrigerer Stufe. Die Farbe des Wassers in beiden Gefäßen wurde dunkelgelb wie starker Tee, und die Intensität der Färbung steigerte sich unter dem Einflusse des Sauerstoffs. Die Kohlensäure- und Alkoholbildung nahmen unter der Einwirkung reinen Sauerstoffs recht erheblich zu, so daß das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}}$ sich beinahe gar nicht geändert hat.

Luft $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 56$.
 Sauerstoff $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 58$.

Versuch 15.

Es wurde ein gleicher Versuch wie der vorhergehende angesetzt. Dauer 165 Stunden. Mittlere Temperatur 24,5°. Das Resultat war fast dasselbe.

Bestimmung des Kohlendioxyds:

Luft im Laufe von 165 Stunden $\text{CO}_2 = 2307 \text{ mg}$,
 Sauerstoff im Laufe von 165 Stunden . . $\text{CO}_2 = 3141 \text{ mg}$.

Alkoholbestimmung:

Luft	$C_2H_5OH = 1260 \text{ mg.}$
Sauerstoff	$C_2H_5OH = 1690 \text{ mg.}$
Luft	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 55,$
Sauerstoff	$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 54.$

Zum Schlusse glaube ich, auf Grund der Resultate dieser kleinen Arbeit und der bekannten Literatur nachstehendes folgern zu können:

1. Die Alkoholgärung höherer Pflanzen kann bei Sauerstoffzutritt vor sich gehen.
 2. Diese Gärung hängt mit der Lebenstätigkeit der Pflanzen und besonders mit ihrem Wachstum zusammen.
 3. Faktoren, die hemmend auf das Pflanzenwachstum wirken, steigern die Alkoholgärung bei Sauerstoffzutritt.
 4. Derartige Faktoren können sein:
 - a) niedere oder hohe Temperatur,
 - b) osmotischer Druck, durch Lösungen verschiedener organischer oder anorganischer Stoffe hervorgerufen.
 5. Die Abwesenheit von Sauerstoff leitet Alkoholgärung ein, weil in diesem Falle das Wachstum verzögert wird.
 6. Bei Entwicklungshemmung der Samen nehmen die Oxydationsvorgänge an Intensität ab; die Schwächung dieses Prozesses erfolgt viel früher als der Tod der Pflanzen.
-

Über die Einwirkung von Alkohol und Osmium auf die bindenden Gruppen der Bakterien.

Von

Margarete Thorsch.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 1. Juli 1914.)

Wir haben in Versuchen¹⁾, in denen wir Blutkörperchen der Einwirkung von Alkohol aussetzten, zeigen können, daß sich diese hinsichtlich ihrer Bindungsfähigkeit für hämolytische Amboceptoren derart verhalten, daß sie sowohl die homologen als auch artfremde Immunkörper verankerten. Für osmierte Blutkörperchen war dasselbe schon früher durch Szily²⁾ gezeigt worden. Eine wesentliche Differenz der osmierten und Alkoholblutkörperchen ergab sich jedoch darin, daß letztere antigen wirken, erstere nicht. Es gelang uns die Ursache hierfür zu finden. Denn während den Alkoholblutkörperchen ihr spezifisches Komplementbindungsvermögen erhalten blieb, war dies bei den osmierten Blutkörperchen verloren gegangen³⁾.

¹⁾ Diese Zeitschr. 55.

²⁾ Szily, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 3.

³⁾ Es ist uns entgangen, daß bereits F. Rosenthal (diese Zeitschr. 46, Heft 3 und 4) darauf hinweist, „daß durch die Vereinigung von Hammelblut-Kan.-Amboceptor und osmierten Hammel- und Meerschweinchen-Erythrocyten ein nennenswerter Komplementverbrauch nicht stattfindet“.

Dazu ist zu bemerken, daß auch bei der spezifischen Hämolyse, wo es ja zu einem Eingreifen des Komplements kommt, ein nennenswerter Verbrauch desselben nicht stattfindet, sondern ein solcher erst nach den Untersuchungen von Liefmann und Cohn, Bail und Suzuki, nach der Hämolyse (Methämolyse) auftritt. Es könnte also nach

Damit war der Beweis erbracht, daß bei den Alkoholblutkörperchen die spezifisch bindenden Gruppen intakt geblieben waren, während bei den osmierten Blutkörperchen sich solche — wenigstens in unserer Versuchsanordnung — nicht nachweisen ließen. Da man die haptophoren Gruppen für die Immunkörperbildung verantwortlich macht, so war dadurch die Differenz zwischen den beiden verschiedenartig veränderten Blutkörperchen befriedigend erklärt.

Größeres Interesse mußten analog ausgeführte Versuche mit Bakterien bieten. Während unsere diesbezüglichen Versuche bereits im Gange waren, erschien die Arbeit von Dold und Aoki¹⁾, welche die Alkoholeinwirkung auf Bakterien bezüglich der Erzeugung von Überempfindlichkeit studierten, mit dem Resultate, daß der Alkohol die anaphylaktogenen Gruppen der Bakterien nicht zerstört.

Bei unsern eigenen Versuchen wurde betreffs der Alkohol- und Osmiumbehandlung derselbe Weg eingeschlagen wie bei den Blutkörperchen. Wir haben jedesmal den dichtbewachsenen Rasen einer schrägen Agarkultur mit 10 ccm Alkohol resp. 7 ccm 1% Osmium, das zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt war, abgespült und nach 24stündiger Einwirkung die Aufschwemmungsflüssigkeit durch Zentrifugieren und mehrmaliges Waschen entfernt. Während die Alkoholbakterien außer einer leichten Ausflockung keine Veränderungen aufwiesen, waren die osmierten Bakterien dunkelbraun verfärbt. Wir haben nun zunächst mit diesen Emulsionen ein spezifisches agglutinierendes Immunserum behandelt, um zu sehen, in welcher Weise die Agglutinine gebunden werden. Die Behandlung der verschiedenen Bakterienemulsionen wurde 1 Stunde lang bei 37° vorgenommen.

den Angaben von Rosenthal der fehlende Komplementverbrauch auf das Fehlen der Hämolyse zurückzuführen sein. Erst durch unsere Versuche, in denen wir durch Herstellung eines komplementbindenden Blutkörperchen-Immunserums eine starke Differenz zwischen Alkohol- und Osmium-Blutkörperchen fanden, ist dieser Einwand auszuschalten und gerade in der Verschiedenheit der Beziehung der beiden Blutkörperchenarten zum Komplement liegt das Wesentliche unserer Feststellung.

¹⁾ Dold und Aoki, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 15, 16.

Versuch 1.

Zeichenerklärung:

+++ = komplette Agglutination.

++ = starke "

+ = wenig "

- = keine "

Von *Vibrio g* und *Staphylokokkus* wird je 1 Kultur mit 10 ccm Alkohol und mit 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt; diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, dann zentrifugiert und 3 mal gewaschen und diese Rückstände in 0,1 ccm Immunserum von *Vibrio g* (1:10 verdünnt) aufgeschwemmt.

- Röhrchen I. *V. g* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. (1:10).
 " II. *V. g* mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " III. *V. g* + 0,1 ccm I.-S.
 " IV. *Staphylokokkus* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " V. " " Osmium " + 0,1 ccm I.-S.
 " VI. " + 0,1 ccm I.-S.

Alle 6 Röhrchen bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann 24 Stunden im Eiskasten und werden dann zentrifugiert. Von den Abgüssen werden folgende Verdünnungen gemacht.

Abguß von I ccm	+ Emul- sion V. g ccm	Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat
0,01	1	—	Abguß v. II + Emulsion	—	Abguß v. III + Emulsion	—	Abguß v. IV + Emulsion	+++
0,005	1	—		—		—		+++
0,0025	1	—		—		—		+++
0,001	1	—		—		—		++
0,0005	1	—		—		—		+

Abguß von V ccm	+ Emul- sion V. g ccm	Resultat		Resultat		Resultat
0,01	1	+++	Abguß von VI + Emulsion	+++	Immunserum V. g + Emul- sion als Kon- trolle	+++
0,005	1	+++		+++		+++
0,0025	1	++		+++		+++
0,001	1	++		+++		+++
0,0005	1	+		++		+++

Aus diesem Versuche geht hervor, daß die auf die verschiedene Weise behandelten homologen Bakterien das Immunserum völlig unwirksam machen, während bei *Staphylokokken* nur eine geringe Abschwächung zutage tritt. Diese Abschwächung erscheint bei den mit Alkohol und mit Osmium be-

handelten Staphylokokken etwas stärker, tritt jedoch auch bei den unbehandelten hervor. Dasselbe tritt auch, und zwar schärfer, in folgendem Versuche hervor.

Versuch 2.

Von *Vibrio g* und *Staphylokokkus* wird je 1 Kultur mit 10 ccm Alkohol und mit 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt; diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, hierauf zentrifugiert und 3 mal gewaschen und diese Rückstände in 0,1 ccm Immunserum von *Vibrio g* (das stets 1:10 verdünnt wurde), aufgeschwemmt.

- Röhrchen I. *V. g* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " II. *V. g* " Osmium " + 0,1 " "
 " III. *V. g* " " " + 0,1 " " + 5 ccm NaCl.
 " IV. *V. g* + 0,1 ccm I.-S.
 " V. *Staphylokokkus* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " VI. " " Osmium " + 0,1 " "
 " VII. " " " " + 0,1 " " + 5 ccm NaCl.
 " VIII. *Staphylokokkus* + 0,1 ccm I.-S.

Alle Röhrchen bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann 24 Stunden im Eiskasten und werden dann zentrifugiert. Von den Abgüssen werden folgende Verdünnungen gemacht.

Abguß von I ccm	+ Emulsion <i>V. g</i> ccm	Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat
0,01	1	—	II	+	III	+	IV	—	V	+++
0,005	1	—	Abguß v. II + Emulsion	—	Abguß v. III + Emulsion	—	Abguß v. IV + Emulsion	—	Abguß v. V + Emulsion	+++
0,0025	1	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
0,001	1	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
0,0005	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Abguß von VI ccm	+ Emulsion <i>V. g</i> ccm	Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat
0,01	1	+++	—	+++	—	+++	—	+++
0,005	1	++	—	++	—	++	—	++
0,0025	1	+	—	+	—	+	—	+
0,001	1	—	—	—	—	—	—	—
0,0005	1	—	Abguß v. VII + Emulsion	—	Abguß v. VIII + Emulsion	+	I.-S. + Emulsion als Kontrolle	+++

Es zeigte sich jedoch in weiteren Versuchen, daß die hier zur Behandlung des Immunserums angewendeten Bakterienmengen sich nicht bei allen Aufschwemmungen gleich verhielten

Wenn wir nämlich das Immuneserum von *Vibrio g* mit dem Bodensatz einer ganzen Agarkultur von *Coli* oder *Vibrio a* behandelten, so hatten auch diese nicht spezifischen Bakterien die Agglutinine vollständig gebunden. Es lag also hier eine nicht spezifische Adsorption vor, die jedoch nicht nur die mit Alkohol und Osmium behandelten Bakterien betraf, sondern auch die unbehandelten Mikroorganismen.

Versuch 3.

Von *Vibrio a* und von *Vibrio g* werden je 2 Kulturen mit 10 ccm Alkohol und mit 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt; diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmer temperatur gelassen, dann zentrifugiert und 3mal gewaschen und diese Rückstände in 0,1 ccm Immuneserum von *Vibrio a* (in der Verdünnung 1:10) aufgeschwemmt.

- Röhrchen I. *V. a* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " II. *V. a* " Osmium " + 0,1 " "
 " III. *V. a* + 0,1 ccm I.-S.
 " IV. *V. g* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " V. *V. g* " Osmium " + 0,1 " "
 " VI. *V. g* + 0,1 ccm I.-S.

Alle 6 Röhrchen bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann 24 Stunden im Eiskasten und werden hierauf zentrifugiert. Von den Abgüssen werden folgende Verdünnungen gemacht.

Abguß I ccm	+ Emulsion <i>Vibrio a</i> ccm	Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat
0,01	1	—	Abguß von II + Emulsion	—	Abguß von III + Emulsion	—	Abguß von IV + Emulsion	—
0,005	1	—		—		—		—
0,0025	1	—		—		—		—
0,001	1	—		—		—		—
0,0005	1	—		—		—		—
0,01	—	—		—		—		—

Abguß V ccm	+ Emul- sion <i>V. a</i> ccm	Resultat		Resultat		Resultat
0,1	1	—	Abguß von VI + Emulsion	+++	I.-S. <i>Vibrio a</i> + Emulsion	+++
0,005	1	—		++		+++
0,0025	1	—		—		+++
0,001	1	—		—		+++
0,0005	1	—		—		++
0,01	—	—		—		—

Der beifolgende Versuch illustriert das eben Ausgeführte. Um nun zu erweisen, ob die Alkohol- und Osmiumbehandlung

auch hinsichtlich der Bindungsverhältnisse für bakterielle Antikörper unspezifische Verhältnisse schafft, mußten die Bakterienmengen, die zur Behandlung des Immunserrums dienten, derart vermindert werden, daß die unspezifische Adsorption in den Hintergrund tritt. Wir erreichten dies zum Teil dadurch, daß wir nur den 10. Teil der früheren Menge, d. h. $\frac{1}{10}$ Kultur zur Erschöpfung der Immunserra benützten.

Versuch 4.

Von *Vibrio a* und *Vibrio g* wird je $\frac{1}{10}$ einer Kultur mit 10 ccm Alkohol und mit 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, dann zentrifugiert und 3 mal gewaschen und diese Rückstände in 0,1 ccm Immunserrum von *Vibrio a* — in der Verdünnung 1:10 — aufgeschwemmt.

- Röhrchen I. *V. a* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " II. *V. a* " Osmium " + 0,1 " "
 " III. *V. a* + 0,1 ccm I.-S.
 " IV. *V. g* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " V. *V. g* " Osmium " + 0,1 " "
 " VI. *V. g* + 0,1 ccm I.-S.

Alle Röhrchen bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann 24 Stunden im Eiskasten und werden hierauf zentrifugiert. Von den Abgüssen werden folgende Verdünnungen gemacht.

Abguß von I ccm	+ Emul- sion <i>V. a</i> ccm	Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat
0,01	1	—	Abguß v. II + Emulsion	—	Abguß v. III + Emulsion	—	Abguß v. IV + Emulsion	+++
0,005	1	—		—		—		+++
0,0025	1	—		—		—		—
0,001	1	—		—		—		—
0,0005	1	—		—		—		—

Abguß von V ccm	+ Emul- sion <i>V. a</i> ccm	Resultat		Resultat		Resultat
0,01	1	+++	Abguß v. VI + Emulsion	+++	Immunserrum <i>V. a</i> + Emul- sion als Kon- trolle	+++
0,005	1	++		+++		+++
0,0025	1	—		—		+++
0,001	1	—		—		+++
0,0005	1	—		—		++

Wenn auch die nicht spezifische Adsorption in diesen Versuchen noch deutlich zutage tritt, so sieht man andererseits trotzdem die Spezifität der Bindung durch den homologen

Mikroorganismus, der das Immunserum vollkommen wirkungslos gemacht hat.

Versuch 5.

Dieser Versuch wird so ausgeführt wie Versuch 2, und zwar mit je $\frac{1}{10}$ Kultur. Statt des Staphylokokkus wird Coli W angewendet.

- Röhrchen I. V. g mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. (von Vibrio g. Verdünnung 1:10.)
 " II. V. g mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " III. V. g " " " + 0,1 " " + 5 ccm NaCl.
 " IV. V. g + 0,1 ccm I.-S.
 " V. Coli mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S.
 " VI. " " Osmium " + 0,1 " "
 " VII. " " " " + 0,1 " " + 5 ccm NaCl.
 " VIII. Coli + 0,1 ccm I.-S.

Alle Röhrchen bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, dann 24 Stunden im Eiskasten und werden hierauf zentrifugiert. Von den Abgüssen werden folgende Verdünnungen gemacht.

Abguß von I ccm	+ Emulsion V. g ccm	Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat
0,01	1	—	Abguß v. II	—	Abguß v. III	—	Abguß v. IV	—	Abguß v. V	+++
0,005	1	—	Emulsion	—	Emulsion	—	Emulsion	—	Emulsion	+++
0,0025	1	—	+	—	+	—	+	—	+	+++
0,001	1	—	+	—	+	—	+	—	+	+++
0,0005	1	—	+	—	+	—	+	—	+	—

Abguß von VI ccm	+ Emulsion V. g ccm	Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat		Re-sultat
0,01	1	+++	Abguß v. VII	+++	Abguß v. VIII	+++	Immunserum V. g + Emulsion als Kontrolle	+++
0,005	1	+++	Emulsion	+++	Emulsion	+++		+++
0,0025	1	+	+	+	+	+		+++
0,001	1	—	+	—	+	—		+++
0,0005	1	—	+	—	+	—		++

Der beifolgende Versuch mit Coli zeigt genau dasselbe Resultat dadurch, daß bei den in verminderten Mengen angewendeten Colibazillen die nicht spezifische Adsorption sehr stark vermindert erscheint.

Wenn wir nun die bisherigen Versuche überblicken, so sehen wir, daß sich die Bakterien wesentlich anders verhalten als die roten Blutkörperchen. Denn während bei letzteren die Behandlung mit den hier angewendeten Chemikalien un-

spezifische Verhältnisse hinsichtlich ihrer Bindungsfähigkeit schafft, werden bei Bakterien die spezifisch bindenden Gruppen für Agglutinine nicht wesentlich tangiert.

Die weiteren Versuche waren der Frage gewidmet, ob die bisherigen Feststellungen auch für die komplementbindenden Antikörper der antibakteriellen Immunsere Gültigkeit haben.

Versuch 6.

Zeichenerklärung:

- k. = komplette Lösung
f. k. = fast komplette Lösung
w. = wenig Lösung
Sp. = Spur „
0 = keine „

Von *Vibrio g* und von *Coli* wird je eine Kultur mit 10 ccm Alkohol und mit 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, dann zentrifugiert und 3mal gewaschen und diese Rückstände in 0,1 ccm Immunsere von *Vibrio g* (1:10 verdünnt) aufgeschwemmt.

- Röhrchen I. V. g mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
" II. V. g mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
" III. V. g + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
" IV. *Coli* mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
" V. *Coli* mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
" VI. *Coli* + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.

Alle 6 Röhrchen bleiben $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37°, werden dann zentrifugiert und aus den abgegossenen Flüssigkeiten folgende Verdünnungen gemacht. (Vorversuch: Emulsion von *Vibrio g*, die $\frac{1}{4}$ Stunde auf 60° erhitzt wurde, in den Dosen 0,2, 0,1, 0,05; zu den 3 Röhrchen 0,1 ccm Komplement und nach $\frac{1}{4}$ Stunde bei 37° je 1 ccm 5% 3fach sensibilisierter Hammelblutkörperchen.)

Abguß I ccm	+ Emul- sion v. V. g ccm	+ Kom- plement ccm		Re- sultat		Re- sultat		Re- sultat
0,5	(0,05)	0,1	0,1	Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 1 ccm 5% 3fach sensi- bilisierte Ham- melblutkörperch.	st.	Abguß II. Versuchsordn. und Behandlung genau wie bei Abguß I.	st.	Abguß III
0,25	(0,025)	0,1	0,1		f. k.		k.	
0,1	(0,01)	0,1	0,1		k.		k.	
0,05	(0,005)	0,1	0,1		k.		k.	
0,01	(0,001)	0,1	0,1		k.		k.	
0,5	—	—	0,1		k.		k.	k.

Abguß IV ccm	+ Emul- sion v. V. g ccm	+ Kom- plement ccm		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat
0,5	0,1	0,1	Nach 1 Std. bei 37° zu jedem Röhrechen 1 ccm 5% stach sensibilisierte Ham-melblutkörperch.	0	Abguß V. Versuchsordn. und Behandlung wie bei Abguß I	0	Abguß VI	0	I.-S. Vibrio g. Versuchsordn. u Behandlung wie bei d. Abgüas.	0
0,25	0,1	0,1		0		0		0		0
0,1	0,1	0,1		0		0		0		0
0,05	0,1	0,1		0		0		0		0
0,01	0,1	0,1		0		0		0		0
0,5	—	0,1		0		0		0		0

Aus dem vorangehenden Versuch geht vollkommen eindeutig hervor, daß die behandelten und unbehandelten spezifischen Bakterienemulsionen die komplementbindenden Immunkörper unwirksam machen; während das auf gleiche Weise behandelte Bacterium coli sich den komplementbindenden Antikörpern gegenüber vollkommen refraktär verhält.

Versuch 7.

Von Vibrio g, Vibrio Metschnikoff und Vibrio XI wird je eine Kultur mit 10 ccm Alkohol und mit 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, dann zentrifugiert und 3mal gewaschen und diese Rückstände in 0,1 ccm Immunserum von Vibrio g (1:10 verdünnt) aufgeschwemmt.

- Röhrechen I. V. g mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " II. V. g mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " III. V. g + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " IV. V. Metschnikoff mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " V. V. Metschnikoff mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " VI. V. Metschnikoff + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " VII. V. XI mit Alkohol behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " VIII. V. XI mit Osmium behandelt + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.
 " IX. V. XI + 0,1 ccm I.-S. + 1,9 ccm NaCl.

Alle 9 Röhrechen bleiben $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°, werden dann zentrifugiert und aus den abgegossenen Flüssigkeiten werden folgende Verdünnungen gemacht. (Vorversuch wie bei Versuch 6.)

Abguß I ccm	+ Emul- sion V. g ccm	+ Kom- plement ccm		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat
0,5	0,1	0,075	Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrechen 1 ccm 5% sensibilisiert. Ham-melblutkörperchen	st.	Abguß II. Behandlung wie bei Abguß I	st.	Abguß III	st.	Abguß IV	0
0,25	0,1	0,075		st.		st.		st.		0
0,1	0,1	0,075		st.		st.		st.		0
0,05	0,1	0,075		st.		st.		st.		0
0,01	0,1	0,075		st.		st.		st.		0
0,5	—	0,075		st.		st.		st.		0

Abguß VII ccm	+ Emul- sion cem	+ Kom- plement ccm		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat
0,5	0,1	0,075	Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 1 ccm sensibilisierte Hammel- blutkörperchen	0	Abguß VIII	0	Abguß IX	0	I.-S. von V. g.	0
0,25	0,1	0,075		0		0		0		0
0,1	0,1	0,075		0		0		0		0
0,05	0,1	0,075		0		0		0		0
0,01	0,1	0,075		0		0		0		0
0,5	—	0,075		st. f.		st. f.		st. f.		st. f.

Besonders klar geht die Spezifität der Bindung der behandelten Emulsionen aus Versuch 7 hervor, indem dieser Versuch, der mit drei verschiedenen Vibrionen angestellt wurde, zeigt, daß nur die homologen Vibrionen (Kolumne I, II, III) die komplementbindenden Immunkörper spezifisch binden. So bestätigen auch diese Versuche, und zwar in noch viel eindeutigerer Weise als die Bindungsversuche mit Agglutininen, die Tatsache, daß Alkohol und Osmium weder bei Bakterien in unspezifischer Weise die Bindungsfähigkeit wesentlich erhöht noch die Spezifität zerstört. Von Interesse mußte es nun erscheinen, Versuche anzustellen, um die Komplementbindungsfähigkeit der auf die verschiedene Weise behandelten Emulsionen zu prüfen. Denn wir wissen durch unsere Versuche mit roten Blutkörperchen, daß Alkohol und Osmium sich ganz different verhalten; und zwar insofern, als letzteres den Blutkörperchen die komplementbindende Fähigkeit nimmt, ersterer sie erhalten läßt.

Versuch 8.

Von *Vibrio g* werden 2 Kulturen in 10 ccm Alkohol und 2 Kulturen in 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt; diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, hierauf zentrifugiert und 3 mal gewaschen. Je ein Rückstand von diesen Aufschwemmungen sowie eine unbehandelte Kultur von *V. g* werden mit 0,1 ccm Immunsrum *Vibrio g* (1:10 verdünnt) zusammengegeben, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gelassen, zentrifugiert, abgegossen, die Bodensätze 2 mal gewaschen und jeder Bodensatz in 5 ccm NaCl aufgeschwemmt.

Röhrchen I.	V. g mit Alkohol behandelt	+ 0,1 ccm I.-S.
" II.	V. g " " "	+ 0.
" III.	V. g " Osmium " "	+ 0,1 ccm I.-S.
" IV.	V. g " " "	+ 0.
" V.	V. g + 0,1 ccm I.-S.	
" VI.	V. g.	

Versuch 11.

Von Cholera werden 2 Kulturen in 10 ccm Alkohol und 2 Kulturen in 7 ccm Osmium, das mit 7 ccm NaCl verdünnt war, aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmungen werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, zentrifugiert und 3mal gewaschen. Je 1 Rückstand von diesen Aufschwemmungen sowie eine unbehandelte Cholerakultur werden mit 0,1 ccm Cholera-Immunsrum (1:10) zusammengegeben, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gelassen, zentrifugiert, abgegossen, die Bodensätze 2mal gewaschen und jeder Bodensatz in 3 ccm NaCl aufgeschwemmt und davon folgende Verdünnungen gemacht.

Röhrchen	I.	Cholera mit Alkohol behandelt	+ 0,1 cem I.-S. (1 : 10).
"	II.	" " " "	+ 0.
"	III.	" " Osmium "	+ 0,1 cem I.-S.
"	IV.	" " " "	+ 0.
"	V.	" + 0,1 cem I.-S.	
"	VI.	"	

Boden- satz I ccm	+ Kom- plement ccm		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat
2,00	0,05	Stunde bei 37° und zu jedem 1 ccm sensibilisirende Hammel- blutkörperchen	0	Bodensatz II. Behandlung wie bei Bodensatz I	k.	Bodensatz III	k.	Bodensatz IV	0	Bodensatz V	0	Bodensatz VI	k.
1,00	0,05		0		k.		k.		k.				
0,50	0,05		0		k.		k.		k.				
0,25	0,05		0		k.		k.		k.				
0,10	0,05		0		k.		k.		k.				

Versuch 12.

Versuchsanordnung und Behandlung genau wie bei Versuch 11.

Mit Cholerabacillen.

Boden- + Kom- satz I plement ccm ccm			Resultat		Resultat		Resultat		Resultat		Resultat		
2,00	0,05	1 Stunde bei 37° und zu jedem Röhrchen 1 ccm sensibilisierte Hammel- blutkörperchen	0	Bodensatz II. Behandlung wie bei Bodensatz I	k.	Bodensatz III	st.	Bodensatz IV	0	Bodensatz V	0	Bodensatz VI	st.
1,00	0,05		0		k.		st.		m.		0		st.
0,50	0,05		0		k.		k.		k.		0		k.
0,25	0,05		0		k.		k.		k.		w.		k.
0,10	0,05		0		k.		k.		k.		st.		k.

Die vorstehend mitgeteilten Versuche, die mit vier verschiedenen Mikroorganismen angestellt wurden, ergeben sämtlich ein eindeutiges Resultat, indem sie zeigen, daß der Alkohol die Bindungsfähigkeit für das Komplement intakt läßt. Denn

es geht aus allen Versuchen klar hervor, daß die Alkohol-Bakterien nach ihrem Kontakt mit Immuns serum das Komplement binden (Kol. I), während sie allein das Komplement unverändert lassen (Kol. II). Die Osmium-Bakterien hingegen sind nach der Behandlung mit Immuns serum zur Komplementbindung nicht befähigt (Kol. III). Es tritt dabei die merkwürdige Tatsache auf, daß das Immuns serum eher die noch bestehende, wahrscheinlich nicht spezifische Bindungsfähigkeit für das Komplement abschwächt, da die nicht mit Immuns serum behandelten Osmiumemulsionen das Komplement deutlich stärker adsorbieren (Versuch 8, 9, 10, 11) als die mit Immuns serum behandelten (Kol. IV). Es lag nicht im Rahmen dieser Untersuchung die Ursache hierfür zu ergründen. Daß sich die unbehandelten Emulsionen genau so verhalten wie die mit Alkohol behandelten, ist in den Versuchen ebenfalls deutlich zu sehen (Kol. V, VI).

Wenn wir nun die hier festgestellte Tatsache mit den analogen Verhältnissen bei roten Blutkörperchen vergleichen, so sehen wir hinsichtlich der Bindungsfähigkeit für das Komplement eine vollkommene Übereinstimmung, indem ebenso wie bei den roten Blutkörperchen auch bei den Bakterien das Osmium die komplementbindenden vermittelnden Gruppen der Bakterien zerstört, während der Alkohol diese Einwirkung nicht ausübt. Nun war es in Anbetracht dieser Tatsache von Interesse, wie sich die Bakterien in immunisatorischer Hinsicht verhalten. Da sich bei den Osmium-Blutkörperchen spezifische Gruppen überhaupt nicht mehr nachweisen lassen, so ist, wie wir in der früheren Arbeit gezeigt, das Versagen der Antigenität verständlich. Bei Bakterien jedoch, wo auch das Osmium die spezifisch bindenden Gruppen zum großen Teil unversehrt läßt, ist von vornherein eine antigene Wirkung zu erwarten. Wir haben aus dem Grunde Kaninchen sowohl mit Osmium- als mit Alkohol-Bakterien behandelt. Jedes Kaninchen bekam eine ganze Agarkultur, die vorher in Alkohol resp. in Osmium aufgeschwemmt wurde, 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, hierauf zentrifugiert und 4mal gewaschen wurde. Diese Bodensätze wurden je in 4 ccm NaCl aufgeschwemmt und dies subcutan injiziert.

Versuch 13.

Serum des mit Alkohol-V. g behandelten Kaninchens I nach 2 Injektionen	+ Emulsion V. g	Resultat der Agglutination
ccm	ccm	
0,1	1	+++
0,05	1	+++
0,01	1	+++
0,005	1	+++
0,0025	1	++
0,001	1	+
0,0005	1	—

Serum des mit Alkohol-V. g behandelten Kaninchens II nach 2 Injektionen	+ Emulsion V. g	Resultat der Agglutination
ccm	ccm	
0,1	1	+++
0,05	1	+++
0,01	1	+++
0,005	1	+++
0,0025	1	+++
0,001	1	++
0,0005	1	—

Serum des mit Alkohol-V. g behandelten Kaninchens III nach 2 Injektionen	+ Emulsion V. g	Resultat der Agglutination
ccm	ccm	
0,1	1	+++
0,05	1	+++
0,01	1	+++
0,005	1	+++
0,0025	1	++
0,001	1	+
0,0005	1	—

Versuch 14.

Serum des mit Osmium-V. g behandelten Kaninchens I nach 2 Injektionen	+ Emulsion V. g	Resultat der Agglutination
ccm	ccm	
0,1	1	+++
0,05	1	+++
0,01	1	+++
0,005	1	+++
0,0025	1	++
0,001	1	—
0,0005	1	—

Serum des mit Osmium-V. g behandelten Kaninchens II nach 2 Injektionen	+ Emulsion V. g	Resultat der Agglutination
ccm	ccm	
0,1	1	+++
0,05	1	+++
0,01	1	+++
0,005	1	+++
0,0025	1	+
0,001	1	—
0,0005	1	—

Serum des mit Osmium-V. g behandelten Kaninchens III nach 2 Injektionen	+ Emulsion V. g	Resultat der Agglutination
ccm	ccm	
0,1	1	+++
0,05	1	+++
0,01	1	+++
0,005	1	+++
0,0025	1	++
0,001	1	+
0,0005	1	—

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß sowohl den mit Alkohol als auch den mit Osmium behandelten Bakterien ihr antikörperbildendes Vermögen erhalten geblieben ist, was der herrschenden Anschauung entsprechend für die Wichtigkeit der mit den Immunkörpern in Reaktion tretenden Gruppen spricht. Ob jedoch die Verankerung dabei die ausschlaggebende Rolle spielt, läßt sich aus diesen Versuchen nicht mit Sicherheit schließen.

Zusammenfassung.

1. Mit Alkohol und Osmium behandelte Bakterien binden spezifisch die Agglutinine und komplementbindende Antikörper.
2. Während die mit Alkohol behandelten Bakterien nach dem Kontakt mit dem Immunserum in spezifischer Weise das Komplement fixieren, ist dies bei den osmierten Bakterien nicht der Fall.
3. Sowohl die mit Alkohol als auch die mit Osmium behandelten Bakterien wirken antigen.

Über die physiologischen Wirkungen des Scillitins und Scillidiuretins.

Von

W. Kopaczewski.

(Aus dem Institut Pasteur, Paris.)

(Eingegangen am 5. Juli 1914.)

Die Meerzwiebel (*Scilla maritima* L., *Urginea maritima* Bacher) gehört zu den ältesten Arzneimitteln. Schon die Ägypter und Griechen haben sie angewandt. Die ersten wissenschaftlichen Arbeiten darüber sind schon am Anfange des 18. Jahrhunderts veröffentlicht worden. Boerhave¹⁾, Cartheuser²⁾, Athanasius³⁾ und Vogel⁴⁾ beschäftigten sich damit, um die wirksamen Stoffe aus der Pflanze zu erhalten. Aber erst nach den Arbeiten von Fagge und Stevenson⁵⁾, die in der Meerzwiebel einen Körper gefunden haben, der nach der Art des *Digitalis* wirkte, versuchten viele Chemiker, diesen digitalis-ähnlich wirkenden Körper aus der Meerzwiebel zu isolieren. Die Ergebnisse bis zum Jahre 1874 — das Datum der letzten Arbeit über die Meerzwiebel von Kurtz⁶⁾ — sind so verwickelt und einander widersprechend, daß es unnütz wäre, sie an dieser Stelle zu referieren. Kurz, man kann sagen, daß heute drei Körper die Wirksamkeit der Meerzwiebel vorstellen — es sind

¹⁾ Boerhave, *Elementa Chemiae* 2, 122.

²⁾ Cartheuser, *Materiae medic. rationalis*, S. 244.

³⁾ Athanasius, *Historiae rad. scillae maritimae physico-medicae specimen*. Hallae 1794.

⁴⁾ Vogel, *Annales de Chimie* 83, 147, 1812.

⁵⁾ Fagge und Stevenson, *Pharmaceutical Journ.* 7, 428, 1865.

⁶⁾ Kurtz, *Dissertation*. Erlangen 1893.

dies die von E. Merck¹⁾ im Jahre 1879 dargestellten und dann vielfach untersuchten Präparate Scillitin, Scillitoxin und Scillipikrin. Diese Körper haben aber keinen Anspruch auf chemische Individualität, und sind²⁾ nur weitgehend gereinigte Extrakte. Möller³⁾ untersuchte diese Stoffe hinsichtlich ihrer physiologischen Wirkung und hat folgende Schlüsse gezogen:

1. Scillipikrin ist von bitterem Geschmack; auf die Schleimhaut wirkt es nicht irritierend, zeigt aber eine entschiedene Wirkung auf das Herz; tödliche Menge 0,01 g für Frösche, 0,3 g für Kaninchen.

2. Scillitoxin ist ein exquisites Herzgift; in der Menge von $\frac{1}{10}$ mg tötet es Frösche.

3. Scillitin ist geschmacklos; keine Giftigkeit.

Jarmerstaedt⁴⁾ bezeichnet als tödliche Dosen des von ihm isolierten Scillains:

für Landfrösche . . .	0,1 bis 0,2 mg,	
„ Wasserfrösche . .	0,5 bis 1,0 mg,	
„ Kaninchen . . .	2,5 mg	} per 1 kg Körpergewicht.
„ Katzen . . .	2,0 mg	
„ Hunde	1,0 mg	

Die Toxizität der von E. Merck gelieferten Präparate war für Ratten, wie ich mich überzeugt habe, die folgende:

Scillitin . . .	0,200 g:	keine Wirkung.
Scillitoxin . .	0,001 g:	Tod nach 68 Stunden.
„ . .	0,002 g:	„ „ 12 „
Scillipikrin .	0,004 g:	„ „ 24 „

Wegen der sehr interessanten Eigenschaften der Meerzwiebel, 1. als Diureticum, 2. als Rattenvertilgungsmittel⁵⁾, wäre es interessant, diese Eigenschaften einem oder zwei ein-

¹⁾ Merck, Pharm. Zeitg. 1879, 286.

²⁾ Merck, l. o.

³⁾ Möller, Dissertation. Göttingen 1879.

⁴⁾ v. Jarmerstaedt, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 11, 22, 1879.

⁵⁾ Die verschiedenen Präparate aus Meerzwiebel scheinen allerdings das zuverlässigste Rattenvertilgungsmittel zu sein. Vgl. Sitzungsber. d. Intern. Kongr. f. ang. Chem. New York 1912; Chem.-Zeitg. 1912.

fachen Körpern zu verleihen und dadurch entweder die sekundären Nachwirkungen der als Diureticum benutzten Scilla-präparate zu beseitigen oder die toxischen Eigenschaften zu verstärken. Dazu kommt noch, daß kürzlich auch eine neue Eigenschaft der Meerzwiebel betont wurde, nämlich die stickstoff austreibende Fähigkeit¹⁾. Aus diesen Gründen habe ich seit einiger Zeit das Studium der Meerzwiebel aufgenommen und schließlich drei, wie es scheint, neue Substanzen isoliert, von denen die eine ausgeprägte toxische, jedoch keine diuretischen, Eigenschaften zeigte, und für die ich den Namen Scillitin beibehalten möchte: eine zweite, die diuretische, aber fast keine toxischen Eigenschaften zu besitzen scheint, und schließlich ein hochmolekulares Kohlenhydrat. Die chemische Seite dieser Untersuchungen ist vorläufig noch nicht beendet und ist Gegenstand weiterer Untersuchungen²⁾. Ich möchte hier nur über die physiologische Wirkung dieser Substanzen berichten.

I. Die physiologische Wirkung des Scillitins.

Scillitin stellt ein gelbliches, leichtes, nicht hygroskopisches Pulver dar; es ist sehr bitter; der bittere Geschmack äußert sich schon in den 0,01%igen Lösungen. Scillitin ist sehr wenig löslich in Wasser (ungefähr 0,18%), dagegen löslich in verschiedenen gesättigten aliphatischen Alkoholen; die wässrigen Lösungen besitzen eine neutrale Reaktion. Scillitin stellt das wirkliche toxische Prinzip der Meerzwiebel dar, denn der nach der Extraktion gebliebene Rückstand besitzt keine toxischen Eigenschaften mehr. Mit dieser Substanz habe ich folgende Versuche angestellt, um ihre Toxizität für einige Tierspezies kennen zu lernen.³⁾

Eine 1‰ige Lösung des Stoffes wurde vor der subcutanen Einspritzung 15 Minuten bei 115° sterilisiert und dann je nach dem Gewicht des Tieres eine entsprechende Menge eingespritzt. Als Grundlage der Rechnung diente 1 mg per 1 kg des Körpergewichts. Ich habe folgende Ergebnisse erhalten:

¹⁾ Pic und Bonnamour, *Presse médicale* 54, 1053, 1912.

²⁾ W. Kopaczewski, *Compt. rend. de l'Acad. d. Sc.* 158, 1520, 1914.

³⁾ Ein kurzer Auszug aus diesem Abschnitt ist schon in *Compt. rend. Soc. Biol.* 1914, Sitzung vom 16. Juni, unter Mitarbeit des Herrn J. Danysz erschienen.

Tabelle I.

Nr.	Tierart	Körpergewicht g	Gegebene Menge mg	Art der Ver- abreichung	Ergebnis
1	Ratte	110	0,1	Ingestion	Tod nach 68 Std.
	"	170	0,2	"	" " 44 "
	"	180	0,3	"	" " 20 "
	"	300	0,4	"	" " 24 "
	"	140	0,3	Injektion	" " 3 "
	"	280	0,4	"	" " 18 "
	"	130	0,4	"	" " 1 "
2	Meerschw.	400	0,4	Ingestion	0
	"	335	0,6	"	0
	"	410	1,0	"	" " 20 "
	"	430	1,6	"	" " 2 "
	"	450	0,4	Injektion	" " $\frac{1}{2}$ "
3	Kaninchen	2300	2,0	Ingestion	0
	"	2400	2,0	"	0
	"	2450	2,0	Injektion	" " 10 "
4	Huhn	2275	2,0	Ingestion	0
	"	1405	2,0	"	0
	"	2100	2,0	Injektion	0
5	Ente	2030	2,0	Ingestion	0
	"	2280	2,0	"	0
	"	1930	2,5	Injektion	" " 16 "
6	Katze	1180	1,0	"	" " $\frac{5}{6}$ "
	"	1050	2,0	"	" " $\frac{1}{2}$ "
	"	1090	3,0	"	" " $\frac{1}{2}$ "
7	Hund	12000	12,0	"	" " $1\frac{1}{2}$ " ¹⁾
	"	25000	10,0	Ingestion	0

Man sieht aus der Tabelle, daß das Scillitin, mit der Nahrung vermischt, besonders für die Ratten toxisch ist. Andere Versuchstiere und Vögel sind sehr resistent gegen in dieser Weise verabreichtes Gift. Was die Hunde und Katzen anbetrifft, so sind diese Tiere äußerst empfindlich gegen den Geschmack dieses Stoffes und nehmen ihn nicht auf. Wir haben gesehen, daß der Hund, der schon 48 Stunden gehungert hatte, die Nahrung (gehacktes Fleisch) mit Scillitin gemischt nicht fressen wollte; wenn wir sie aber doch gewaltsam eingeführt hatten, so hat er alles nach 15 Minuten wieder von sich gegeben.

Um die toxische Menge der getrockneten Meerzwiebelwurzeln mit derjenigen des Scillitins zu vergleichen, haben wir folgende Versuche angestellt.

¹⁾ Der Hund hat zuerst 5 mg bekommen, dann nach 4 Stunden wieder 7 mg; die Zeit ist von der ersten Einspritzung an gerechnet.

Tabelle II.

Nr.	Tierart	Körper- gewicht g	Verabreichte Mengen		Ergebnis
			des Scillitins mg	der getrock- neten Wurzeln g	
1	Ratte	120	—	0,1	Tod nach 98 Std.
	"	195	—	0,2	" " 24 "
	"	180	—	0,3	" " 20 "
	"	110	0,1	—	" " 68 "
	"	180	0,3	—	" " 20 "
2	Meerschw.	505	—	0,1	0
	"	410	—	0,5	" " $3\frac{1}{2}$ "
	"	370	—	1,0	" " $2\frac{1}{2}$ "
	"	410	1,0	—	" " 20 "
	"	430	1,6	—	" " 2 "
3	Kaninchen	2200	—	2,0	" " 60 "
	"	2200	—	3,0	" " 44 "
	"	2300	2,0	—	0
4	Huhn	1570	—	2,0	0
	"	1950	—	2,0	0
	"	2275	2,0	—	0
5	Ente	1520	—	2,0	0
	"	3260	—	2,0	0
	"	2030	2,0	—	0
6	Hund	12000	—	5,0	0 ¹⁾
	"	25000	10,0	—	0

Es wurde also beobachtet, daß 1 mg des Scillitins 1 g der getrockneten Wurzeln entspricht; wenn wir aber bemerken, daß man aus 1 kg der getrockneten Meerzwiebel 2 bis 3,7 g des Scillitins gewinnen kann, so sieht man, daß die Wirkung 2 bis 4 mal stärker ist. Jedenfalls sind wir von Möllers Angaben²⁾, daß das Scillitoxin von Merck 2000fach stärker wirkt als entsprechendes Scillaextrakt, sehr weit entfernt.

Bei der Verabreichung des Scillitins in genügenden, Tod hervorrufenden Mengen kann man folgendes beobachten:

Das Tier zittert; dieses Zittern verstärkt sich, und bald sieht man einige Stöße, die immer stärker werden; dann ist der hintere Teil des Körpers paralysiert und nachher die eine Hälfte des Körpers; das Tier bewegt sich um seine Achse; es treten Konvulsionen auf; die Atmung ist sehr erschwert und nach einigen starken Stößen ist das Tier tot. Die Agonie ist je nach der Tierart länger oder kürzer: die

¹⁾ Hat alles nach $\frac{1}{4}$ Stunde ausgebrochen.

²⁾ Möller, l. c.

längste bei den Ratten (bis zu 20 Stunden), die kürzeste bei den Katzen (5 bis 15 Minuten).

Die Autopsie hat folgendes ergeben: das Herz ist in der Systole stehen geblieben; eine starke Lungenblähung ist sichtbar.

Aus den angegebenen Resultaten kann man folgende Schlüsse ziehen:

1. Die Tiere sind in gleichem Maße gegen die Einspritzungen des Scillitins empfindlich; die tötliche Menge des Scillitins ist 1 mg pro 1 kg des Körpergewichts. Aber es gibt weitgehende Unterschiede, wenn das Gift mit der Nahrung eingeführt wird: die Ratten sind am wenigsten resistent; am meisten die Hühner und Enten. Für Hunde und Katzen scheint das Scillitin sehr widerwärtig zu sein, ähnlich wie die Scillaextrakte selbst.

2. Die Ratten sind sehr wenig resistent gegen das Scillitin, wenn es mit der Nahrung verabreicht wird; mehr aber, wenn es eingespritzt wird; die tötenden Mengen verhalten sich wie 1 : 4.

3. Das Scillaextrakt ist giftiger für Meerschweinchen und Kaninchen als das Scillitin.

II. Die physiologische Wirkung des Scillidiuretics.

Dieser Körper begleitet bei unrichtigem Arbeiten das Scillitin. Deshalb ist das Scillipikrin Mercks, dem die diuretische Wirkung stark zukommt, toxisch und umgekehrt das Scillitoxin Mercks diuretisch. Dieses Gemisch ist aber noch von vielen anderen pflanzlichen Stoffen, wie Tannin, Zuckerarten usw., begleitet. Um das Scillitin von diesem diuretischen Prinzip zu befreien, muß man es durch wiederholte Lösung und Fällung durch Alkohol und Äther reinigen.

Tabelle III.

Nr.	Tierart	Körpergewicht g	Verabreichte Menge(Injektion)	Ergebnisse
1	Ratte	170	0,5 mg	0
	"	120	1,0 mg	0
	"	145	5,0 mg	0
	"	195	20,0 mg	0
2	Kaninchen	2,450	1,0 g	Krank, zuerst unbeweglich, dann erholt sich rasch
	"	2,180	0,2 g	0
	"	2,830	0,02 g	0

Es stellt ein gelbliches Pulver dar, das amorph, wasserlöslich, in Alkohol dagegen unlöslich ist. Die wässrige Lösung ist neutral, nicht bitter, aber herb. Zuerst haben wir mit den sterilisierten Lösungen dieses Stoffes seine Toxizität geprüft (Tabelle III).

Man kann annehmen, daß im Vergleich mit dem Scillitin das Scillidiuretin fast ungiftig ist.

Tabelle IV.

Urinmengen.

Tage	Kaninchen Nr. 32, 2170 g	Kaninchen Nr. 32, 2190 g	Kaninchen Nr. 34, 2000 g	Kaninchen Nr. 35, 2630 g
13 Tage in Beobach- tung	Von 8 bis 84 ccm durch- schnittlich 28 ccm täglich	Von 2 bis 80 ccm durch- schnittlich 28 ccm täglich	Von 14 bis 100 ccm durch- schnittlich 37 ccm täglich	Von 4 bis 100 ccm durch- schnittlich 28 ccm täglich
	Einspritzung des Scillidiuretins			
11. V. 1914	0,02 g	0,02 g	0,04 g	
12. V.	90 ccm 38 ccm	75 ccm 53 ccm	100 ccm 44 ccm	20 ccm 18 ccm
	Einspritzung			
12. V.			0,02 g	0,02 g
13. V.	45 ccm	51 ccm	20 ccm	175 ccm
	Einspritzung			
13. V.	0,02 g	0,02 g	0,04 g	0,02 g
14. V.	48 ccm	60 ccm	152 ccm	85 ccm
15. V.	68 ccm	102 ccm	30 ccm	0
16. V.	33 ccm	23 ccm	48 ccm	5 ccm
	Einspritzung			
16. V.	0,04 g	0,04 g	0,04 g	
17. V.	130 ccm	75 ccm	30 ccm	21 ccm
	Einspritzung			
17. V.	0,08 g	0,08 g		
18. V.	70 ccm	125 ccm	48 ccm	14 ccm
19. V.	85 ccm	90 ccm	6 ccm	14 ccm
20. V.	66 ccm	67 ccm	6 ccm	20 ccm
21. V.	72 ccm	40 ccm	40 ccm	60 ccm
22. V.	43 ccm	35 ccm	4 ccm	30 ccm
23. V.	33 ccm	20 ccm	32 ccm	22 ccm
24. V.	62 ccm	64 ccm	26 ccm	54 ccm

Wir sehen, daß die Kaninchen eine Urinmenge von 28 bis 37 ccm durchschnittlich abgeben. Diese Urinmenge ist wäh-

rend der Einspritzungen vom 1. V. bis 20. V. durchschnittlich auf 47 bis 72 ccm gestiegen. Ich glaube, daß wir es hier mit einem markanten urintreibenden Mittel zu tun haben.

Andererseits habe ich die etwaigen diuretischen Eigenschaften des Scillitins geprüft, aber bis zu 2 mg pro Kilogramm Körpergewicht (tötende Menge) keine Vermehrung der Urinmenge festgestellt.

Zusammenfassung.

Die zwei aus Meerzwiebel dargestellten Substanzen weisen, den bisherigen Untersuchungen entgegen¹⁾, die physiologischen Eigenschaften der Meerzwiebel dar: das Scillitin ist ein ausgeprägtes Gift, Scillidiuretin — und daher sein Name — ein Diureticum. Die weiteren Untersuchungen werden ergeben, ob dies Diureticum keine Nachwirkung, z. B. Nekrobiose, verursacht und wirklich ein gutes urintreibendes Mittel ist; gleichfalls können die weiteren chemischen Untersuchungen erst ergeben, ob wir es hier mit einheitlichen Körpern zu tun haben. Vorläufig scheint es, daß das Scillitin allerdings ein chemisches Individuum ist — ein stickstofffreies Glucosid von der Formel $C_{17}H_{35}O_6$ ²⁾. Jedenfalls kann man es nicht mit voller Sicherheit des amorphen Zustandes der beiden Körper wegen behaupten. Es läßt sich nur sagen, daß

Scillitin ein giftiger Körper ist, der toxisch in der Menge von 1 mg pro kg Körpergewicht wirkt,
Scillidiuretin einen urintreibenden Körper darstellt, der die Vermehrung der Urinmenge bei Kaninchen um das Doppelte herbeiführt.

¹⁾ Vgl. Richaud, Précis de Thérapeut. et de Pharm. Paris 1908, S. 731.

²⁾ Vgl. W. Kopaczewski, l. c.

Nachträgliche Bemerkung zu meiner Abhandlung: Darstellung von linksdrehendem Benzaldehyd durch asymmetrische Induktion mit Hilfe von Rechtsweinsäure, Überführung desselben in linksdrehendes Mandelsäurenitril und rechtsdrehende Mandelsäure usw.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserl. Biologischen Anstalt zu Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 7. Juli 1914.)

Im Anschluß an die genannte kurze Mitteilung¹⁾ möchte ich, um Mißverständnissen vorzubeugen, noch folgendes erwähnen.

Die nach dem Erhitzen von d-Weinsäure und Benzaldehyd in alkoholischer Lösung in der angegebenen Weise abgeschiedene, säurefrei gewaschene ätherische Lösung, die den Benzaldehyd enthält, zeigte bei allen Versuchen eine starke Linksdrehung.

Für den Schluß, daß in dieser Lösung linksdrehende Benzaldehydmoleküle anzunehmen seien, war, wie leicht aus meiner Abhandlung zu ersehen ist, allein die Feststellung maßgebend, daß man daraus über linksdrehendes Mandelsäurenitril rechtsdrehende Mandelsäure erhalten konnte.

Am Schlusse dieser meiner vorläufigen Mitteilung richtete ich an die Herren Fachgenossen die Bitte, mir die ungestörte Ausarbeitung der Aktivierung des Benzaldehyds zu überlassen, und fügte hinzu: „Vor allem muß die weitere Untersuchung lehren, unter welchen Bedingungen die erworbene Aktivität des Benzaldehyds bestehen bleibt und unter welchen Bedingungen sie wieder verschwindet, und ferner, ob der aktivierte Benzaldehyd etwa imstande ist, zum Teil, so wie die aktive Zimtsäure, sich mit der Weinsäure

¹⁾ Diese Zeitschr. 64, 382, 1914.

zu einer leicht wieder zerfallenden Verbindung zu vereinigen.“

Seit dem 9. Mai, dem Tage des Eingangs der Abhandlung bei der Redaktion, habe ich in Gemeinschaft mit G. Hilgen-dorff diese Fragen weiter verfolgt. Dabei fanden wir folgendes:

Das nach mehrstündigem Kochen der alkoholischen Benzaldehyd-Weinsäurelösung durch Zusatz von Wasser abgeschiedene Öl läßt sich durch öfteres Ausschütteln mit Wasser vollständig weinsäurefrei erhalten.

Das von Weinsäure befreite Öl löst sich vollständig in Äther.

Es besteht natürlich zum größten Teil aus inaktivem Benzaldehyd. Nach unseren weiteren Untersuchungen muß das Öl aber noch drei andere Bestandteile enthalten, nämlich einen Teil, aus dem es gelingt geringe Mengen d-Mandelsäure zu gewinnen, und ferner gleichfalls in geringer Menge zwei Verbindungen, eine saure und eine neutrale, die in Benzaldehyd und Weinsäure zerlegbar sind.

Da wir nach den Erfahrungen bei den aktiven Zimtsäuren gar nicht daran denken konnten, aktiven Benzaldehyd ohne Zerstörung der Aktivität durch Vakuumdestillation herauszuarbeiten, begnügten wir uns zunächst mit dem Nachweis der Bildung von d-Mandelsäure aus dem mit Weinsäure erhitzten Benzaldehyd.

Bei der neueren Untersuchung auf weinsäurehaltige Verbindungen gelang es, dem in Äther gelösten, von Weinsäure befreiten Öl durch Schütteln mit Bicarbonat eine linksdrehende, unter geeigneten Bedingungen in Benzaldehyd und Weinsäure zerlegbare Säure zu entziehen.

Das auf diese Weise von allen aktiven, sauer reagierenden Bestandteilen befreite Öl besaß noch eine sehr starke Linksdrehung und wurde nunmehr der Destillation im Vakuum unterworfen. Der übergegangene Benzaldehyd erwies sich, wie wir nicht anders erwartet hatten, als inaktiv.

Das zurückbleibende stark aktive, goldgelbe Öl, das sich weder mit Wasserdampf noch im Vakuum destillieren läßt, wurde zur Entfernung etwa noch vorhandenen Benzaldehyds der freiwilligen Oxydation überlassen und danach durch Bicarbonatlösung von der gebildeten Benzoesäure befreit. Das so gewonnene dicke Öl, das fest erhalten werden konnte, enthält gleichfalls Benzaldehyd und Weinsäure in gebundener Form

und zeigt ein $[\alpha]_D = -40,0^\circ$. Wie in der ausführlichen Abhandlung beschrieben werden soll, gelingt es unter geeigneten Bedingungen, daraus eine feste Säure, die in Benzaldehyd und Weinsäure zerlegbar ist, zu gewinnen.

Da das ursprüngliche Öl neutraler Natur ist, so muß man annehmen, daß der darin befindliche Benzaldehyd in seiner asymmetrischen Form sowohl die Carboxyl- als die Hydroxylgruppen der Weinsäure in Anspruch genommen hat.

Ob die hier nur kurz erwähnten Verbindungen von Benzaldehyd und Weinsäure imstande sind, aktives Mandelsäurenitril und aktive Mandelsäure zu liefern, erscheint sehr zweifelhaft, muß jedoch durch weitere Versuche entschieden werden, deren Ausführung ich mir ausdrücklich vorbehalte, ebenso wie die ungestörte Fortsetzung der noch im Gange befindlichen schwierigen Untersuchungen.

Bei der zweifellos sehr großen Unbeständigkeit der nach der Theorie denkbaren molekular-asymmetrischen Carboxylverbindungen muß man in erster Linie bestrebt sein, den Nachweis ihrer Existenz gewissermaßen in statu nascendi durch Überführung in ein stabiles asymmetrisches Molekül mit asymmetrischem Kohlenstoff zu erbringen.

Bei der Destillation ist die Erhaltung der Aktivität bei solchen Körpern auf keinen Fall zu erwarten.

Veranlassung zu dieser nachträglichen kurzen Bemerkung gibt mir ein Brief des Herrn E. Wedekind, in dem er mir mitteilt, daß er nach dem ihm übersandten Sonderabdruck sogleich meine Versuche nachgemacht und den nach dem Kochen mit Weinsäure erhaltenen linksdrehenden Benzaldehyd der Destillation im Hochvakuum unterworfen habe. Dabei stieß er natürlich auf das ebenerwähnte hochsiedende neutrale Öl.

Der übergegangene Benzaldehyd ließ, wie nicht anders zu erwarten war, eine Aktivität nicht erkennen.

Herr E. Wedekind bat mich, bei einer Veröffentlichung auf das von ihm bei der Destillation erhaltene Resultat Bezug zu nehmen, eine Bitte, der ich hierdurch gern entspreche.

Nach dieser weiteren Untersuchung kann daher nicht mehr von der dauernden Existenz aktiver Benzaldehydmoleküle in nennenswerter Menge die Rede sein.

Berichtigung zu meinem Aufsatz: Ein Mikrorespirationsapparat¹⁾.

Von
August Krogh.

(Aus dem zoophysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

Bei der Aufstellung der Formel zur Berechnung der Sauerstoffabsorption habe ich, wie ich jetzt gefunden habe, einen ernstlichen Fehler begangen, indem ich eine notwendige Reduktion des Luftvolumens auf 0° unterlassen habe. Die richtige Formel lautet:

$$d \left(A p \frac{273}{273 + t_w} + v \frac{P - f_L}{760} \frac{273}{273 + t_L} \frac{A + C}{2C} \right),$$

in der t_w und t_L die Temperaturen resp. des Wasserbades und der Luft bedeuten, während f_L die zu der Lufttemperatur gehörige Wasserdampf-tension ist. Die Größe $\frac{P - f_L}{760} \frac{273}{273 + t_L}$ wird, genau wie in der Ab-handlung angegeben, ein für allemal für gewöhnliche Zimmertemperatur und mittleren Druck ausgerechnet und, mit v multipliziert, auf das Manometer eingeschrieben. Die Korrektur auf $A p \frac{273}{273 + t_w}$ muß aber in jedem einzelnen Versuche berücksichtigt werden.

Die korrigierte Formel habe ich jetzt experimentell geprüft und bestätigt gefunden.

Die Zahlenangaben der Abhandlung sind wie folgt zu korrigieren:
S. 270: Sauerstoffwert eines Millimeters

$$\left(2,86 \frac{273}{301,2} + 0,123 \right) \frac{278,2}{278,9} = 2,713 \text{ statt } 2,975.$$

S. 271, Z. 4: Sauerstoffabsorption $0,422 \cdot 2,713 = 1,146$ omm pro Minute oder 393 ccm pro Kilogramm und Stunde.

S. 271, Z. 10: Sauerstoffabsorption pro Minute 0,698 cmm, pro Kilogramm und Stunde 239 ccm.

S. 278: Die in der Tabelle gegebenen Mittelwerte sind folgender-weise zu korrigieren:

45	auf	43,5
110	"	104
199	"	185
328	"	300
495	"	445
592	"	529.

Die Kurve ist natürlich entsprechend falsch gezeichnet. Die korrigierte Kurve hat eine etwas niedrigere Lage, weicht im übrigen nur höchst unbedeutend von der gezeichneten ab.

Die für Q_{10} angegebenen Werte sind so wenig beeinträchtigt, daß eine Berichtigung unterbleiben kann.

¹⁾ Diese Zeitschr. 62, 266.

Autorenverzeichnis.

- Alzona, Federico. Über Verbindungen vom Typus der Chondroitinschwefelsäure. S. 408.
- Berezeller, L. Stalagmometrische Studien an kristalloiden und kolloiden Lösungen. V. S. 173. VI. S. 191. VII. S. 202. VIII. S. 207. IX. S. 219. X. S. 225.
- Bürgi, E., und C. F. v. Traozewski. Über die Wirkung von Organextrakten auf das Herz. I. S. 417.
- Cahn-Bronner, C. E. Über das Verhalten der Eiweißspeicherung in der Leber bei enteraler und parentealer Zuführung von verschiedenen Eiweißabbauprodukten. S. 289.
- Cserna, S., und G. Kelemen. Beitrag zur Kenntnis der „spezifisch-dynamischen Wirkung“ der Nährstoffe. S. 63.
- Erlenmeyer, Emil. Nachträgliche Bemerkung zu meiner Abhandlung: Darstellung von linksdrehendem Benzaldehyd durch asymmetrische Induktion mit Hilfe von Rechtsweinsäure, Überführung desselben in linksdrehende Mandelsäure usw. S. 509.
- Farkaš, Milan. Enthält der normale Harn freies Glycerin? S. 115.
- Fex, J., siehe Forssman und Fex.
- Fiedl, Gustav, siehe Gróh und Friedl.
- Forssman, J., und J. Fex. Über antianaphylaktische Erscheinungen bei den homologen und heterologen Antihämmlern von Kaninchen. S. 308.
- Fujii, Torahiko. Über das Vorkommen von gerinnungshemmenden Substanzen in den weiblichen Geschlechtsorganen und in der Placenta. S. 368.
- Götz, Irene D., siehe Gróh und Götz.
- Gróh, Julius, und Gustav Friedl. Beiträge zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften der alkohollöslichen Proteine des Weizens und Roggens. S. 154.
- und Irene D. Götz. Stalagmometrische Bestimmung kleiner Hydroxylionenkonzentrationen. S. 165.
- Hári, Paul. Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Energieumsatz und Eiweißstoffwechsel beim Hungern. S. 1.
- Energieumsatz bei chronischer Unterernährung. S. 20.
- Hemmeter, John C. Ergänzung zum Artikel über „Die Biochemie des Vagusproblems“. II. S. 437.
- Kelemen, G., siehe Cserna und Kelemen.
- Kobzareno, S. Untersuchungen über das Erepsin. S. 344.
- Kopaczewski, W. Über die physiologischen Wirkungen des Scillitins und Scillidiuretins. S. 501.
- Krauß, J., und M. Seiner. Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes. IV. S. 56.
- siehe Verzáar und Krauß.
- Kriwuscha, Alexander, siehe Szalágyi und Kriwuscha.
- Krogh, August. Berichtigung zu meinem Aufsatz: Ein Mikrorespirationsapparat. S. 512.
- Loeb, Jacques. Der irreziproke Charakter des Antagonismus zwischen Anionen und Kationen. S. 277.
- Lvoff, Sergius. Zur Kenntnis der Hefereduktase. S. 440.
- Minenkow, A. R. Die alkoholische Gärung höherer Pflanzen. S. 467.

- Parsamow, O. S. Einige experimentelle Untersuchungen über die Frage der Entstehung und Spezifität der Blutfermente bei Anwendung des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens. S. 269.
- Polányi, M. Adsorption, Quellung und osmotischer Druck von Kolloiden. S. 258.
- Rohonyi, H. Ionenpermeabilität und Membranpotential. S. 231.
- Zur Theorie der bioelektrischen Ströme. S. 248.
- Seiner, M., siehe Krauß und Seiner.
- Szalágyi, Kornelius, und Alexander Kriwuscha. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des Enten- und Hühnerharnes. S. 122.
- — Über das Verhalten einiger Aminosäuren im Stoffwechsel der Vögel. S. 139.
- Szalágyi, K. Refraktions- und Dispersionsbestimmungen an Fetten und Ölen. S. 149.
- Thorsch, Margarete. Über die Einwirkung von Alkohol und Osmium auf die bindenden Gruppen der Bakterien. S. 486.
- Traczewski, C. F. v., siehe Bürgi und Traczewski.
- Verzár, F., und J. Krauß. Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes. III. S. 48.
- Die Verbrennung des Zuckers im Pankreasdiabetes. IV. S. 75.
- Weiser, Stephan. Zur Kenntnis des Einflusses kalkarmer Nahrung auf die Zusammensetzung der wachsenden Knochen. S. 95.
- Willberg, M. A. Die natürliche Resistenz einiger Tiere dem Atropin gegenüber. S. 389.

e- und
an Per-

er die
und
Grup-

Bürgi

Die
im

e im

nat-
fab-
ung
96
the
re-

CHEMISTRY LIBRARY



JOURNAL

Does Not Circulate

CHEMISTRY LIBRARY

ALF Collections Vault



3 0000 091 338 867